

**Aeromonas hydrophila als Ursache
einer endemischen Karpfenerkrankung
in Nordgriechenland**

Apostolos Sioutas

Disbui. München

1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Zoologie und Hydrobiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf und Prof. Dr. W. Ahne

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann

Aeromonas hydrophila
als Ursache einer endemischen
Karpfenerkrankung in Nordgriechenland

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Apostolos Sioutas
aus Theotokos-Trikalon

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr.habil. R. Hoffmann

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. F. Bakels

Tag der Promotion: 28. Juli 1989

Inhaltsverzeichnis	Seite
I Einleitung	1
II Literaturübersicht	2
1. Berichte über Hautgeschwüre bei Karpfen und deren Erreger	2
1.1 Aeromonas salmonicida	2
1.1.1 Vorkommen	2
1.1.2 Epizootologie	2
1.1.3 Systematische Stellung	3
1.1.4 Biologie von Aeromonas salmonicida	3
1.1.5 Erythrodermatitis des Karpfens	4
1.2 Aeromonas hydrophila	6
1.2.1 Vorkommen	6
1.2.2 Systematische Stellung	6
1.2.3 Biologie von Aeromonas hydrophila	6
1.2.4 Symptomatologie und pathologisch-anatomisches Bild einer Aeromonas hydrophila Infektion bei Süßwasserfischen	7
1.2.5 Diagnose und Differentialdiagnose	8
1.2.6 Pathogenität	9
1.2.7 Pathogenese und Epizootologie	10
1.2.8 Therapie	11
1.3 Pseudomonaden	12
1.3.1 Pseudomonas fluorescens	13

III	Eigene Untersuchungen	15
1.	Material	15
1.1	Untersuchte Tiere	15
1.2	Herkunft der griechischen Karpfen	15
1.3	Anamnese der Erkrankungen von Karpfen im Polyphytossee	16
2.	Methoden	17
2.1	Zusammensetzung der verwendeten Nährböden und Medien	17
2.2	Sektion	19
2.3	Bakteriologie	19
2.4	Histologie	22
2.5	Methodik zur Produktion des Zellextraktes von <i>Aeromonas hydrophila</i>	23
3.	Versuche	23
3.1	Zweck der Versuche	23
3.2	Versuchsbedingungen	24
3.3	Inokulation der Versuchstiere	24
3.3.1	Infektionsversuche	24
3.3.1.1	Erster Versuch	24
3.3.1.2	Zweiter Versuch	24
3.3.2	Toxinversuche	25
3.3.2.1	Toxinversuche mit Karpfen	25
3.3.2.2	Toxinversuche mit Mäusen	25

3.4	Versuchsansätze	26
3.4.1	Infektionsversuche	26
3.4.2	Toxinversuche	27
3.4.2.1	Toxinversuche mit Karpfen	27
3.4.2.2	Toxinversuche mit Mäusen	28
4.	Ergebnisse	30
4.1	Ergebnisse der natürlich erkrankten Schuppenkarpfen	30
4.1.1	Symptomatologie und pathologisch-anatomisches Bild	30
4.1.2	Bakteriologie	31
4.1.2.1	Keimisolierung	31
4.1.2.1.a	Aeromonas hydrophila	33
4.1.2.1.b	Pseudomonas sp	33
4.1.2.1.c	Flavobacterium balustinum	34
4.1.2.1.c	Acinetobacter sp	34
4.1.2.2	Biochemische Reaktionen der aus natürlich erkrankten Schuppenkarpfen isolierten Bakterien	35
4.1.2.3	Antibiogramm	37
4.1.2.4	Verteilung der aus natürlich erkrankten Schuppenkarpfen isolierten Bakterien	38
4.1.3	Histologische Befunde bei erkrankten Schuppenkarpfen aus Griechenland	39
4.2	Versuchsergebnisse	40
4.2.1	Infektionsversuche	40

4.2.1.1	Versuch 1	40
4.2.1.1.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	40
4.2.1.1.b	Pathologisch-anatomisches Bild	41
4.2.1.1.c	Bakteriologie	41
4.2.1.2	Versuch 2	44
4.2.1.2.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	44
4.2.1.2.b	Pathologisch-anatomisches Bild	44
4.2.1.2.c	Bakteriologie	45
4.2.1.2.d	Histologische Befunde	45
4.2.2	Toxinversuche	52
4.2.2.1	Toxinversuche mit Spiegelkarpfen	52
4.2.2.1.1	Versuch 3	52
4.2.2.1.1.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	52
4.2.2.1.1.b	Pathologisch-anatomisches Bild	52
4.2.2.1.1.c	Pathologische Histologie	52
4.2.2.1.2	Versuch 5	53
4.2.2.1.2.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	53
4.2.2.1.2.b	Pathologisch-anatomisches Bild	54
4.2.2.1.2.c	Pathologische Histologie	54
4.2.2.1.3	Versuch 4	55
4.2.2.1.3.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	55
4.2.2.1.3.b	Pathologisch-anatomisches Bild	55
4.2.2.1.3.c	Pathologische Histologie	55

4.2.2.1.4	Versuch 6	56
4.2.2.1.4.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	56
4.2.2.1.4.b	Pathologisch-anatomisches Bild	56
4.2.2.1.4.c	Pathologische Histologie	57
4.2.2.2	Toxinversuche mit Mäusen	68
4.2.2.2.1	Versuch 7	68
4.2.2.2.1.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	68
4.2.2.2.1.b	Pathologisch-anatomisches Bild	68
4.2.2.2.1.c	Pathologische Histologie	68
4.2.2.2.2	Versuch 8	69
4.2.2.2.2.a	Klinischer Verlauf und Symptomatik	69
4.2.2.2.2.b	Pathologisch-anatomisches Bild	69
4.2.2.2.2.c	Pathologische Histologie	69
IV	Diskussion	71
V	Zusammenfassung	77
VI	Summary	78
VII	Literaturverzeichnis	79



Tabellenverzeichnis	Seite
Tabelle 1	4
Biochemie von <i>Aeromonas salmonicida</i> (nach POPOF and VERON 1976) (nach BÖHM et al., 1986)	
Tabelle 2	7
Biochemisches Verhalten von <i>Aeromonas hydrophila</i> (nach POPOF and VERON 1976)	
Tabelle 3	8
Virulenz verschiedener motiler <i>Aeromonaden</i> (nach LALLIER et al., 1981)	
Tabelle 4	12
Im Wasser vorkommende <i>Pseudomonaden</i> (nach SCHUBERT und Mit., 1973)	
Tabelle 5	14
Biochemie der <i>Pseudomonaden</i> (nach STANIER et al., 1966 in BERGEY's Manual 1984) (nach RILEY et al., 1972)	
Tabelle 6	26
Versuchsansätze	
Tabelle 7	27
Toxinversuche mit Karpfen	
Tabelle 8	28
Toxinversuche mit Mäusen	
Tabelle 9	31
Daten und Gesamtzahl der Keimisolierungen aus den erkrankten Schuppenkarpfen	
Tabelle 10	35
Biochemische Reaktion der aus natürlich erkrankten Schuppenkarpfen isolierten Bakterien	
Tabelle 11	37
Antibiogramm von Keimen, die aus den Organen erkrankter Schuppenkarpfen isoliert wurden	
Tabelle 12	42
Symptomatik und Bakteriologie der im Versuch 1 s.c. und i.p. mit der Bakteriensuspension infizierten Spiegelkarpfen	

Tabelle 13	49
Symptomatik und Bakteriologie der in Versuch 2 s.c. und in die skarifizierte Haut mit <i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i> infizierten Spiegelkarpfen	
Tabelle 14	50
Pathologische Histologie der in Versuch 2 mit <i>Aeromonas hydrophila</i> infizierten Fische	
Tabelle 15	58
Pathologische Histologie der im Versuch 3 und 5 s.c. mit steril filtriertem Überstand und im Versuch 4 und 6 s.c. mit steril filtriertem Zellextrakt von <i>Aeromonas hydrophila</i> injizierten Spiegelkarpfen	
Tabelle 16	70
Pathologische Histologie der im Versuch 7 i.p. mit steril filtriertem Überstand und im Versuch 8 i.p. mit steril filtriertem Zellextrakt von <i>Aeromonas</i> <i>hydrophila</i> injizierten Mäuse	

I Einleitung

Hautgeschwüre beim Karpfen stellen immer noch ein großes Problem in der Fischzucht dar. Über die Ätiologie dieser Geschwüre gibt es in der Literatur unterschiedliche Meinungen.

In den letzten Jahren haben Hautgeschwüre bei Karpfen in Griechenland zugenommen und hohe Verluste in der Teichwirtschaft verursacht. Ein solches Problem mit Hautgeschwüren und Fischsterben trat 1987 am Polyphytossee in Nordgriechenland bei Schuppenkarpfen auf.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Ursache dieses Fischsterbens zu klären und generell mehr Kenntnisse über die Ätiologie der Hautgeschwüre zu gewinnen.

II Literaturübersicht

1. Berichte über Hautgeschwüre bei Karpfen und deren Erreger

Berichte über Hautgeschwüre bei Karpfen (*Cyprinus carpio*) kommen von SCHÄPERCLAUS (1979) AMLACHER (1986), ROBERTS und SCHLOTTFELDT (1985) und AUSTIN and AUSTIN (1987). Geschwüre in der Haut können durch die verschiedensten Bakterien bei Karpfen hervorgerufen werden. Nach Untersuchungen von SCHÄPERCLAUS (1927, 1928) können sie durch *Aeromonaden*, *Pseudomonaden* und *Vibrionen* entstehen. Hautgeschwüre, auch bei anderen Süßwasserfischen, können durch *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Pseudomonas fluorescens* und *Flexibacter columnaris* (BOOTSMA 1975, 1976, BOOTSMA and CLERX, 1976) verursacht werden.

1.1 *Aeromonas salmonicida*

1.1.1 Vorkommen

Der Name "*Aeromonas*" leitet sich aus dem Griechischen ab: *Aer* = Luft, *monas* = Monada bzw. Einzeller. *Aeromonas salmonicida* ist der am längsten bekannte bakterielle Krankheitserreger der Fische (EMMERICH und WEIBEL, 1890). Dieses Bakterium soll nicht ubiquitär im Wasser verbreitet sein (HEUSCHMANN-BRUNNER, 1974), sondern im Wasser nur dann vorkommen, wenn sich erkrankte Fische darin befinden (SNIESZKO, 1973).

1.1.2 Epizootologie

Aeromonas salmonicida wurde bei einer Reihe von Fischarten festgestellt. Bei Salmoniden wurde das Bakterium als Erreger der Furunkulose gefunden (McCARTHY, 1975 a), beim Karpfen, bei Blicke, Zier- und Farbkarpfen und bei Karauschen in der Subspeci *nova* als hauptsächlicher Verursacher der Erythrodermatitis (BOOTSMA et al., 1977, FIJAN, 1979), (McCARTHY, 1975), (FUHRMANN, 1983).

Der genaue Übertragungsmodus von *Aeromonas salmonicida* ist noch nicht eindeutig bekannt (McCARTHY and ROBERTS, 1980). Erkrankte Fische, infiziertes Wasser und kontaminierte teichwirtschaftliche Gerätschaften gelten als Infektionsquelle (ROBERTS und SCHLOTTFELDT, 1985).

1.1.3 Systematische Stellung

Nach BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology (1984) gliedert sich die als *Aeromonas salmonicida* bezeichnete Species in drei Subspecies:

<i>Aeromonas salmonicida</i>	ssp.	<i>salmonicida</i>
<i>Aeromonas salmonicida</i>	ssp.	<i>achromogenes</i>
<i>Aeromonas salmonicida</i>	ssp.	<i>masoucida</i>

Gestützt auf umfangreiche Literaturangaben und detaillierte Untersuchungen schlugen McCARTHY und ROBERTS (1980) eine andere Einteilung der unbeweglichen *Aeromonaden* vor:

Gruppe 1: Typische *Aeromonas salmonicida*-Stämme
Aeromonas salmonicida ssp. *salmonicida*

Gruppe 2: Aus Salmoniden isolierte atypische Stämme
Aeromonas salmonicida ssp. *achromogenes*

Gruppe 3: Auch Nicht-Salmoniden isolierte atypische Stämme
Aeromonas salmonicida ssp. *nova*

1.1.4 Biologie von *Aeromonas salmonicida*

Nach SCHUBERT (1967 a, 1969) ist *Aeromonas salmonicida* ein gramnegatives, unbewegliches Stäbchen mit abgerundeten Enden und coccoider Form von $1 \times 1,7 - 2 \mu\text{m}$ Größe. Das Wachstumsoptimum liegt bei 25°C.

Tabelle 1 Biochemie von *Aeromonas salmonicida*
 (nach POPOF and VERON 1976) (nach BÖHM
 et al. 1986)

<i>Aeromonas salmonicida</i>				
	ssp. salmo- nicida	ssp. achro- mogenes	ssp. masou- cida	ssp. nova
Oxidase	+	+	+	+
Beweglichkeit	-	-	-	-
Wachstum bei 37°C	-	-	-	-
Indolproduktion	-	+	+	-
Äskulin	+	-	+	-
Arabinose	+	-	+	-
Sucrose	-	+	+	+
Mannitol	+	-	+	-
Inosital	-	-	-	-
Voges Proskauer	-	-	+	v
Glucose	+	-	+	+
H ₂ S - produktion	-	-	+	+

Legende: + = positives Ergebnis
 - = negatives Ergebnis
 v = variables Ergebnis

DUBOIS-DARNAUDPEYS (1977) zeigte, daß die Überlebensfähigkeit des Bakteriums *Aeromonas salmonicida* vom pH und von der Wassertemperatur abhängig ist. In Süßwasser von pH 7,9 bei 4°C überlebte der Keim bis zu 50 Tage und bei 22°C bis zu 15 Tage. *Aeromonas salmonicida* kann auch bis zu 29 Tage im Teichschlamm überstehen.

1.1.5 Erythrodermatitis des Karpfens

SCHÄPERCLAUS (1930) hatte eine Erkrankung der Karpfen als infektiöse Bauchwassersucht der Cypriniden (IBW) benannt. Er teilte diese Krankheit nach der Verlaufsform in eine akute Form mit typischem Aszites und in eine chronische oder Geschwürsform ein. Die akute Form der infektiösen Bauchwassersucht wird primär durch das "Rhabdovirus carpio" verursacht. Die Krankheit wurde von FIJAN et al. (1971) ätiologisch geklärt und "Frühjahrsvirämie" benannt.

Die chronische oder Geschwürsform der infektiösen Bauchwassersucht, die durch ein Bakterium verursacht wird, hat FIJAN (1972) als Erythrodermatitis (Carp Erythrodermatitis, CE) benannt. Dieses Bakterium wurde als atypischer Stamm von *Aeromonas salmonicida* identifiziert (BOOTSMA et al., 1977, 1978) und nach dem Vorschlag von McCARTHY und ROBERTS (1980) in die Gruppe 3 der *Aeromonas salmonicida* Klassifikation unter der Bezeichnung *Aeromonas salmonicida* ssp. nova eingeordnet. WIEDEMANN (1979, 1981) stellte eine serologische Verwandtschaft seiner unbeweglichen Isolate mit typischen *Aeromonas-salmonicida*-Stämmen fest. Auch aus Rotaugen und Lauben konnte WIEDEMANN (1980) ein gramnegatives unbewegliches Bakterium isolieren, das er dem *Aeromonas-salmonicida*-Komplex zuordnete.

Nach BOOTSMA et al. (1977) tritt diese Infektionskrankheit der Haut bei wechselnder Letalität und Mortalität subakut bis chronisch bei allen Wassertemperaturen auf. Sehr häufig sind Hautverletzungen der Ausgangspunkt der Infektion, gefolgt von einem entzündlich-hämorrhagischen Prozeß zwischen Dermis und Epidermis, der zu einem Geschwür führt.

Die Pathogenese der Erythrodermatitis und die Rolle der Exo- und Endotoxine des Erregers wurden von POL et al. (1980) untersucht. Endotoxine - hauptsächlich Lipopolysaccharide - scheinen für den Wirt relativ harmlos zu sein, Exotoxine - Proteine - dagegen können als ursächlich für die CE-Geschwüre erachtet werden. Sie spielen auch bei der Bildung der Immunität eine ausschlaggebende Rolle und könnten die Basis für eine Vakzine darstellen (POL et al. 1980). Als Überträger bzw. Wegbereiter der Krankheit werden blutsaugende Parasiten, wie Egel oder Karpfenläuse vermutet, da der Keim die unverletzte Haut nicht zu durchdringen vermag (ROBERTS und SCHLOTFELDT, 1985). Nach BOOTSMA et al. (1977, 1978) ist der Erreger der Erythrodermatitis der Karpfen labil, sein Überleben in toten Fischen sehr begrenzt und er kann nur schwer mit den routinemäßig angewendeten bakteriologischen Methoden isoliert werden.

Nach WIEDEMANN (1981) kann der Erreger der Erythrodermatitis durch direkte Immunofluoreszenz nachgewiesen werden.

1.2 *Aeromonas hydrophila*

1.2.1 Vorkommen

Aeromonas hydrophila gehört zur natürlichen Bakterienflora der Oberflächengewässer (HEUSCHMANN-BRUNNER, 1978). Sie können dort in großer Menge vorhanden sein. Nach SCHUBERT (1967, a) beträgt ihre Zahl in intensiv bewirtschafteten Fischteichen einige Hundert bis mehr als Tausend Keime pro Milliliter Wasser. Von HEUSCHMANN-BRUNNER (1978) wurden in Fischteichen aus der Umgebung Münchens *Aeromonas*-zahlen der gleichen Größenordnung festgestellt. Die *Aeromonaden* sind als Saprophyten und fakultative Krankheitserreger bei Süßwasserfischen weit verbreitet. AOKI (1974) untersuchte neben dem Darmtrakt der Fische auch die Keimflora von fünf Karpfenteichen in Shioda Town, Japan. Aus dem Darmtrakt der 64 untersuchten Karpfen (311 Keime) isolierte AOKI v.a. *Aeromonas liquefaciens* (Syn. *Aeromonas hydrophila*) 78,5%, *Pseudomonaden* 15,8% und *Enterobacteriaceae* 5,2%. Die prozentuale Verteilung der Keime aus den Karpfenteichen (247 Isolate) lag für *Aeromonaden* bei 73,3%, *Pseudomonaden* 22,3% und *Enterobakterien* 3,2%.

1.2.2 Systematische Stellung

Zu den beweglichen *Aeromonaden* werden heute nach BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology (1984) die Species

Aeromonas hydrophila,
Aeromonas caviae und
Aeromonas sobria

gerechnet. Die in der Literatur lange Zeit gebräuchlichen Namen fischpathogener *Aeromonas*-Arten, wie *Aeromonas punctata*, *Aeromonas liquefaciens* oder *Aeromonas formicans* sind als Synonyma für *Aeromonas hydrophila* zu betrachten.

1.2.3 Biologie von *Aeromonas hydrophila*

Nach BERGEY's Manual sind *Aeromonas hydrophila* Bakterien gramnegative, bewegliche, an den Enden abgerundete Stäbchen. Sie bewegen sich durch eine polare Geißel. Sie sind fakultativ anaerob, heterotroph mit oxidativem und fermentativem Stoffwechsel. Ihr Wachstumsoptimum liegt bei 28°C und ihr pH-Bereich reicht von 5,5 - 9,0. Sie können auch bei 37°C wachsen, deswegen werden sie auch bei Warmblütern gefunden (SANARELLI 1891, CASELITZ 1966, SANUAL 1975). Nach SCHUBERT (1967) ist *Aeromonas hydrophila* auch für den Menschen pathogen.

Tabelle 2 Biochemisches Verhalten von *Aeromonas hydrophila*
(nach POPOF and VERON 1976)

Oxidase	+
Katalase	+
Beweglichkeit	+
Wachstum bei 37°C	+
Indolproduktion	+
Asculin	+
Arginindihydrolase	+
Lysindecaboxylase	-
Ornithindecaboxylase	-
H ₂ S-Produktion	+
Voges Proskauer	+
Gelatinase	+
Nitratreduktion	+
Glucose-Abbau	+
Xylose	-
Dulcitol	-
Inositol	-
Maltose	+
Trehalose	+
Mannitol	+
Salicin	+
Phenylanin-desaminase	-
DNase	+

Legende: siehe Tabelle 1

1.2.4 Symptomatologie und pathologisch-anatomisches Bild einer *Aeromonas hydrophila* Infektion bei Süßwasser- fischen

Eine Bakterieninfektion führt nicht immer zu einer Infektionskrankheit mit dem entsprechenden Krankheitsbild, sondern die Abwehrlage des Wirtsorganismus sowie Umweltfaktoren bestimmen das Entstehen einer klinisch inapparenten bzw. apparenten Infektion oder Infektionskrankheit (ROLLE und MAYR, 1978).

Nach HEUSCHMANN-BRUNNER (1978) bestanden die Krankheitserscheinungen bei Infektionen mit *Aeromonas hydrophila* gewöhnlich in starker Rötung der Ventralseite, Ödemen der Haut und der inneren Organe, die den Leib anschwellen ließen, Peritonitis, Hepatitis, Ascites, Darmentzündung, vor allem des Enddarmes und Petechien in der Schwimmblasenwand. Nach HUIZINGA et al. (1979) bestanden die Symptome einer hämorrhagischen Infektion bei *Aeromonas hydrophila* in einer starken Rötung der Ventralseite, Ödemen der Haut und der inneren Organe, die den Leib anschwellen ließen, Peritonitis, Hepatitis, Ascites, Darmentzündung, vor allem des Enddarmes und Petechien in der Schwimmblasenwand.

gischen Septikämie, die durch die Anwesenheit von kleinen oberflächlichen Läsionen charakterisiert sind sowie lokale Blutungen, vor allem in den Kiemen und am Bauch, Ulzera, Abszesse, Exophthalmus, aufgetriebener Bauch, Aszites, Anämie, Nekrosen, vor allem in Niere und Leber.

1.2.5 Diagnose und Differentialdiagnose

BOULANGER et al. (1977) legten besonderen Wert auf Gramfärbung, fermentativen Metabolismus, Produktion von Arginindihydrolase, Katalase und Oxidase, aber nicht von Lysin oder Ornithin-decarboxylase.

Enterotoxine produzierende *Aeromonas hydrophila*-Stämme zeigen eine besonders ausgeprägte Agglutinationsfähigkeit von humanen O-Erythrozyten (ATKINSON and TRUST, 1980). Die optimale Wachstumstemperatur liegt bei 25°-35°C, somit höher als die von *Aeromonas salmonicida*. Das Maximum liegt bei 45°C, das *Aeromonas hydrophila* nicht länger als 48 Stunden überleben kann (HAZEN and FLIERMANS, 1979).

Die Untersuchungen von LALLIER et al. (1981) zeigen deutliche Virulenzunterschiede zwischen verschiedenen motilen *Aeromonaden* bei Regenbogenforellen, wie aus Tabelle 3 ersichtlich ist.

Tabelle 3 Virulenz verschiedener motiler *Aeromonaden* (nach LALLIER et al. 1981)

	LD ₅₀ nach intramuskulärer Injektion				
	10 ⁴ · 5	10 ⁵ · 5	10 ⁷	>	10 ⁸
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5 ^a	5	10		10
<i>Aeromonas sobria</i>	0	0	0		10

a = Anzahl der Stämme

1.2.6 Pathogenität

SANARELLI (1891) hatte *Aeromonas hydrophila* als Ursache einer vom Wasser ausgehenden bakteriellen Infektion bei Fröschen erkannt und nannte diesen Mikroorganismus "*Bacillus hydrophilus fuscus*". In Infektionsversuchen an Fischen, Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugetieren wies er seine Pathogenität nach.

HEUSCHMANN-BRUNNER (1978) hat an Karpfen gezeigt, daß anaerobe Aeromonaden der *Hydrophila-punctata*-Gruppe durchweg erheblich geringer pathogen sind, während bei den aeroben Species von *Aeromonas hydrophila* ssp. *hydrophila* und *Aeromonas punctata* ssp. *punctata*, für Fische hochpathogene Stämme vorkommen.

Die Mehrzahl der im Oberflächenwasser vorhandenen Aeromonaden der *Hydrophila-punctata*-Gruppe sind apathogen für Fische, zumal in stark belasteten Fließgewässern nach SCHUBERT (1975) oder HEUSCHMANN-BRUNNER (1978) die Zahl der anaeroben Aeromonaden die der aeroben weit übertrifft.

CASELITZ und GÜNTHER (1960), CASELITZ und GREBS (1961) sowie CASELITZ (1966) gelang es, bei *Aeromonas Hydrophila*-Stämmen verschiedene Toxine nachzuweisen. Sie fanden ein filtrierbares Hämolyysin, welches Erythrozyten von Kaninchen und Meerschweinchen angreift, ein Leucocidin, ein auf weiße Mäuse letal wirkendes Toxin mit "nekrotischer Wirkung".

Bei den durch Aeromonaden verursachten Gastroenteritiden des Menschen wäre in Ländern mit überwiegendem Rohverzehr von Fischen daran zu denken, daß sich Aeromonaden im toten Fischkörper vermehren (HEUSCHMANN-BRUNNER, 1970) und sich eventuell vorhandene enterotoxische Stoffe anreichern.

SANUAL et al. (1975) haben experimentelle Untersuchungen am Kaninchendarm gemacht und die Enteropathogenität von 12 von 14 *Aeromonas Hydrophila*-Stämmen verschiedener Herkunft nachgewiesen.

Fischpathogene Stämme von *Aeromonas hydrophila* produzieren extrazelluläre Produkte (ECP), die enzymatische Aktivitäten besitzen. Die Bedeutung von ECP wurde von ALLAN und STEVENSON (1981) und STEVENSON und ALLAN (1981) herausgestellt. Es gelang ihnen, pathologische Veränderungen in Fischen durch die Injektionen extrazellulärer Produkte auszulösen. Sie beobachteten hämolytische hitze-labile und proteolytische Aktivität-

ten. Die hämolytische Aktivität wurde als ursächlich für die Pathogenese angesehen.

LALLIER et al. (1984) fanden, daß im Vergleich mit virulenten und schwächer virulenten Isolaten, beide hämolytische, enterotoxische und dermonekrotische Aktivität haben, aber die schwächer virulenten Isolate 20mal mehr Hämolysin als die virulenten Organismen produzieren.

1.2.7 Pathogenese und Epizootologie

Für den Ausbruch einer Erkrankung bei Fischen durch Aeromonaden dürften verschiedene Faktoren verantwortlich sein. Vermutlich spielen hierbei die Pathogenität des Erregers, die Abwehrlage des Fischbestandes oder auch der Einfluß durch die Umwelt eine Rolle.

Durch Injektion wurde bei den Versuchen von SCHÄPERCLAUS (1952) und HEUSCHMANN-BRUNNER (1978) eine tödliche Infektion mit *Aeromonas Punctata* (= *hydrophila*) und *Aeromonas Hydrophila-Punctata*-Gruppe entsprechend, bei Karpfen verursacht. Auf natürlichem Weg, z.B. durch Haltung der Fische in mit Aeromonaden stark verseuchtem Wasser, oder durch Bakterienfütterung, war dagegen eine Erkrankung nur schwer oder gar nicht auszulösen.

MILLER and CHAPMANN (1976) beschrieben im Herbst auftretende *Aeromonas hydrophila*-Infektionen mit ausgedehnten Hautläsionen bei Centrarchidae (Sonnenfische) aus Staubecken in Nordcarolina. Sie sollen primär durch Befall mit Ektoparasiten (*Epistylis*) hervorgerufen werden.

Nach HAZEN et al. (1982) werden einige pathogene *Aeromonas-Hydrophila*-Isolate aus Fischgeschwüren spezifisch von Fischschleim angezogen als *Aeromonas-hydrophila*-Isolate aus dem Wasser. Diese chemotaktische Substanz ist hitzestabil bei 56°C und hat ein Molekulargewicht von 100 000 Daltons.

GROBERG et al. (1978) fanden heraus, daß Todesfälle bei Fischen, die durch intraperitoneale Injektionen infiziert wurden, nur bei Wassertemperaturen über 9,7°C auftraten.

Nach SNIESZKO and BULLOCK (1976) können leichte Infektionen mit *Aeromonas hydrophila* bei Fischen ohne klinische Symptome auftreten, während sie in Verbindung mit Streßfaktoren (Wechsel der Temperatur, Läsionen, Verletzungen durch Ektoparasiten) klinische Symptome hervorrufen können. Außerdem spielen auch Umweltbelastungen, wie Abwassereinleitungen, hohe

Schwermetallionenkonzentrationen im Wasser, Abfischung, Transport, eine Rolle.

Nach BOONYARATPALIN (1987) wurde das Epizootische Ulcerative Syndrom bei Nutz- und Wildfischen in Burma, Indonesien, Laos, Malaysia, Singapur und Thailand mit bakteriellen Krankheitserregern, insbesondere *Aeromonas hydrophila* und in einigen Fällen *Pseudomonas* sp. in Verbindung gebracht. Nach der Diskussion über das Ulcus Syndrom, die Charakteristika der Bakterien und die Resistenztests wurde es jedoch als unwahrscheinlich angesehen, daß Bakterien und hauptsächlich *Aeromonas hydrophila* die primäre Ursache des Epizootischen Ulcerativen Syndroms darstellen.

1.2.8 Therapie

AOKI and EGUSA (1971) stellten in Japan bei *Aeromonas hydrophila*-Stämmen, die aus Süßwasserfischen isoliert wurden, eine Ampicillinresistenz fest. Sie berichteten, daß sich diese Resistenz nicht auf *Escherichia coli* durch Konjugation übertragen ließ, obgleich Sulfonamid-, Tetracyclin- und Chloramphenicolresistenzen aus R-Plasmiden anderer Keimarten auf *E. coli* übertragbar waren. Aus diesem Grunde vermuteten sie, daß die Ampicillinresistenz eine angeborene Resistenz von *Aeromonas hydrophila* sei.

Einige Aufmerksamkeit wurde der Entwicklung von Vakzinen geschenkt, obwohl kommerzielle Produkte noch nicht erhältlich sind. Einfache Zubereitungen mit inaktivierten Bakterien, die über Bad, Injektion oder Futter verabreicht werden, scheinen gut zu wirken (SCHACHTE, 1978, LAMERS and DE HAAS, 1983).

Nach SCHACHTE (1978) wurden die überzeugendsten Immunantworten, gemessen am Antikörpertiter, durch Injektion erzielt. Die zweitbeste Methode ist das Bad und danach folgt die Applikation über das Futter.

Nach LAMERS et al. (1985 b) wurden Karpfen durch Baden geimpft. Obwohl ein einziges Bad keine außergewöhnlichen Serumantikörperkonzentrationen ergab, führte eine zweite Impfung nach 1, 3 oder 8 Monaten zu einem dramatischen Ansteigen der Antikörper. Die beste Antwort wurde durch Zweitimpfung nach 3 Monaten erreicht. Nach 12 Monaten gab es keine sekundäre Immunantwort mehr.

1.3 Pseudomonaden

Pseudomonaden sind oft an Mischinfektionen beteiligt. Sie sind im Wasser ubiquitär vorkommende Bakterien, deren Differenzierung oft Schwierigkeiten bereitet (SCHUBERT und Mit., 1973).

Tabelle 4 Im Wasser vorkommende Pseudomonaden
(nach SCHUBERT und Mit., 1973)

<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>Ps. fluorescens</i>
<i>Ps. putida</i>	<i>Ps. aereofaciens</i>
<i>Ps. chlororaphis</i>	<i>Ps. cepacia</i>
<i>Ps. marginata</i>	<i>Ps. caryophylli</i>
<i>Ps. stutzeri</i>	<i>Ps. pseudomallei</i>
<i>Ps. alcaligenes</i>	<i>Ps. pseudoalcaligenes</i>
<i>Ps. lemoigneri</i>	<i>Ps. acidovorans</i>
<i>Ps. testosteroni</i>	<i>Ps. maltophila</i>
<i>Ps. resicularis</i>	<i>Ps. diminuta</i>

Nach PFEIL-PUTZIEN (1988) wurden im Zeitraum 1986-1988 in Süddeutschland insgesamt 527 Fische (Salmoniden) von Teichwirtschaften (360) und Freigewässern (167) untersucht. Es dominierten mit mehr als 45 Isolaten die Aeromonaden, gefolgt von verschiedenen Pseudomonaden-Arten (49). Diese Pseudomonaden-Arten sind:

<i>Ps. ssp.</i>	17
<i>Ps. fluorescens</i>	1
<i>Ps. putida</i>	6
<i>Ps. aeruginosa</i>	7
<i>Ps. cepacia</i>	8
<i>Ps. alcaligenes</i>	2
<i>Ps. vesicularis</i>	2
<i>Ps. putrefaciens</i>	3
<i>Ps. maltophila</i>	1
<i>Ps. pseudoalcaligenes</i>	1

Nach BERGEY's Manual (1984) werden *Pseudomonas aeruginosa* und *Pseudomonas putrefaciens* häufig aus verdorbenen und kranken Fischen isoliert. Die Biochemie dieser Bakterien ist in Tabelle 5 zu sehen.

Zwei Vertreter der Pseudomonaden werden für Krankheiten verantwortlich gemacht. So gab es in Japan durch die von *Pseudomonas anguilliseptica* verursachte "Red Spot Disease" große Verluste bei Aalen (AMOS, 1985).

Auch *Pseudomonas fluorescens* kann nach AUSTIN and AUSTIN (1987) eine Reihe von Fischen befallen und zu Verlusten führen.

1.3.1 *Pseudomonas fluorescens*

Nach MATTHEIS (1964) sind diese Bakterien gerade Stäbchen, einzeln und in Paaren vorkommend, beweglich mit 2-5 polaren Geißeln, gramnegativ, asporogen. Die Kolonien sind weißgrau bis gelblich-bräunlich, später butterartig, und die Nährböden fluoreszieren im ultravioletten Licht. SCHÄPERCLAUS (1959) fand im Darm von Karpfen *Ps. fluorescens*-Stämme, die auch nach Injektion im Karpfen akute Form von Bauchwassersucht und Geschwüre hervorriefen.

CSABA et al. (1981) beobachteten im Zeitraum von 1978-1981 eine durch *Pseudomonas fluorescens* hervorgerufene hochgradige septikämische Infektion mit schweren Verlusten bei Fernost-Cypriniden und Silberkarpfen in Winterungsteichen.

AHNE et al. (1982) erzielten in einem Versuch mit *Pseudomonas fluorescens* bei intraperitoneal infizierter Schleienbrut 100% Mortalität, innerhalb von 10 Tagen bei einer Wassertemperatur um 10°C.

Nach AUSTIN and AUSTIN (1987) wird *Pseudomonas fluorescens* im Zusammenhang mit dem als "Fin Rot" oder "Tail Rot" bezeichneten Krankheitsbild genannt. Die Krankheit kann eine Reihe von Fischen betreffen, wie z.B. Schleie, Goldfisch, Grasfisch, verschiedene andere Cypriniden und möglicherweise auch Regenbogenforellen und manifestiert sich in umfangreichen Nekrosen am Schwanz und an den Flossen.

Die Biochemie dieses Bakterium ist in Tabelle 5 zu sehen.

Tabelle 5 Biochemie der Pseudomonaden

(nach STANIER et al. (nach RILEY
1966 in BERGEY's et al. 1972)
Manual 1984)

	Ps. fluorescens	Ps. aeruginosa	Ps. putre- faciens
Gram	-	-	-
Oxidase	+	+	+
Fluoreszierendes Pigment	+	v	.
Arginin dihydrolase	+	+	-
Xylose	v	-	-
Maltose	-	-	+
Saccharose	v	-	.
Mannitol	+	+	-
Glucose	+	+	v
Inositol	+	-	-
Celatinase	+	+	+
Wachstum bei 4°C	+	-	.
Wachstum bei 41°C	-	+	.
Pyocyanin Produktion	-	+	.
Beweglichkeit	+	+	+

Legende: siehe Tabelle 1
· kein Ergebnis

III Eigene Untersuchungen

1. Material

1.1 Untersuchte Tiere

Insgesamt wurden 80 Karpfen (*Cyprinus carpio*) untersucht. Davon stammten als Ausgangsmaterial 26 Schuppenkarpfen (K_1) aus dem Fischzuchtbetrieb Anaptixiaki Kozani - AN.KO. AE am Polyphytossee, Nordgriechenland. Diese spontan erkrankten einsömmerigen Schuppenkarpfen hatten eine Größe von 22-29 cm, bei einem Gewicht von 180-234 g. Die Entnahme der Fische erfolgte im Dezember 1987 (6 Fische) und April 1988 (20 Fische). Die ausgewählten Fische wurden lebend in das Tierärztliche Institut in Thessaloniki transportiert. In diesem Institut erfolgte die pathologisch-anatomische Untersuchung, die Beimpfung der Nährböden und die Fixierung der Organe von 19 Fischen. Die restlichen 7 Fische wurden nach 24 Stunden nach München geflogen und im Institut für Zoologie und Hydrobiologie der Universität München weiter untersucht.

54 gesunde Spiegelkarpfen (K_1) mit einer Größe zwischen 8-15 cm und einem Gewicht von 30-58 g für Infektions- und Toxinversuche stammten aus einer bayerischen Teichwirtschaft. 6 NMRI Albino-Mäuse wurden für Toxinversuche verwendet.

1.2 Herkunft der griechischen Karpfen

Der Polyphytossee ist ein künstlich angelegter See, der von dem Fluß Aliakmon gespeist wird. Er liegt in der Nähe der Stadt Kosani in Nordgriechenland (Abb. 1), hat eine Größe von 74 km², eine Tiefe bis zu 91 m und eine Wasserkapazität von $1,939 \cdot 10^9$ m³. Dieses Gewässer hatte im Dezember 1987

einen pH-Wert von 7,1

einen Sauerstoffgehalt von 6,8 mg/l

eine Wassertemperatur von 11°C

und Werte einer Wasserhärte von 2,8 - 7°dH

Abb. 1 Übersicht über den Entnahmeort der Schuppenkarpfen in Griechenland



Klimaka 1:750.000

1.3 Anamnese der Erkrankung von Karpfen im Polyphytossee

Zwischen dem 12.9. und dem 19.10.1987 wurden aus einer Fischzucht von Kerkinsee, Nordgriechenland, 8.500 einsömmerige Schuppenkarpfen entnommen und in Behältern mit Umwälzpumpen im Auto zum Polyphytossee transportiert. Während des 7-stündigen Transports starben ca. 15% der Schuppenkarpfen, viele wurden verletzt. Am Polyphytossee wurden die Fische in Netzkäfige verbracht und dort gehältert.

Ende Oktober desselben Jahres traten in der Fischzucht Krankheitsausbrüche mit folgenden Symptomen auf: Die Fische verhielten sich apathisch und waren appetitlos. Sie zeigten Schuppensträube, Schuppenverlust und Hämorrhagien um nekrotische Zentren. Rötungen um Brustflossen sowie im Bereich der Afteröffnung waren sichtbar, ebenso wie ein Exophthalmus.

Erste Anzeichen einer Erkrankung wurden in dem Netzkäfig des letzten Fischtransports festgestellt. Wenige Tage danach konnten im zweiten Netzkäfig dieselben Symptome beobachtet werden, kurz darauf auch in allen restlichen Netzkäfigen. Die Mortalität betrug zwischen November 1987 und April 1988 über 80%.

Für die erkrankten Schuppenkarpfen wurde in der Fischzucht die folgende Therapie durchgeführt:

01.11.87)
 20.11.87) drei Bäder mit 5 g Chloramphenicol / 100 l H₂O
 13.12.87)
 17.12.87) zwei Bäder mit 500 g Chloramphenicol /
 08.01.88) 6 m³ H₂O
 10.02.88) Bad mit 2% NaCl für 30 Minuten
 29.02.88) Bad mit 1 gr CuSO₄ / 10 l H₂O für 15 Minuten

6 Fische wurden im Dezember 1987 und 20 Fische im April 1988 entnommen und untersucht. Innerhalb dieses Zeitraumes starben ca. 80% der ursprünglichen Fische.

2. Methoden

2.1 Zusammensetzung der verwendeten Nährböden und Medien

Standard - I - Nähragar (Merck)

Pepton aus Fleisch	7,8 g / l
Pepton aus Casein	7,8
Hefeextrakt	2,8
NaCl	5,6
D (+) - Glucose	1,0
Agar	12,0

pH = 7,5

Columbia - Agar (Merck, Basis) mit 5% Schafblut (OXOID)

Spezial-Nährsubstrat	23,0 g / l
Stärke	1,0
Natriumchlorid	5,0
Agar-Agar	13,0
Schafblut defibriniert und steril	5,0%
pH = 7,3	

Columbia - Agar (Merck, Basis) mit 2% Forellenblut
(eigene Herstellung)

Spezial-Nährsubstrat	23,0 g / l
Stärke	1,0
Natriumchlorid	5,0
Agar-Agar	13,0
Forellenblut steril, heparinisiert	2,0%
pH = 7,3	

Trypton - Soja - Agar (OXOID)

Trypton	15,0 g / l
Soja Pepton	5,0
Natriumchlorid	5,0
Agar No. 3	15,0
pH = 7,3	

Caso - Bouillon (Caseinpepton - Sojamehlpepton -
Bouillon, Merck)

Pepton aus Casein	17,0 g / l
Pepton aus Sojamehl	3,0
D (+) - Glucose	2,5
Natriumchlorid	5,0
di - kaliumhydrogenphosphat	2,5
pH = 7,3	

Lösungen

Phosphatgepufferte physiologische NaCl-Lösung (PBS)

NaCl	8 g / l
KCl	0,2
KH_2PO_4	0,12
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,91
Aqua bidest	1 l
pH = 7,5	

Narkosemittel

Zur Betäubung der Versuchsfische wurde 0,007%iges Tricain Methansulfonat (MS 222^R Sandoz) benutzt.

2.2 Sektion

Alle Fische wurden mit MS 222^R (0,007%ig) getötet. Bauch und Seitenflächen wurden mit trockenen Tüchern gesäubert und mit 96% denaturiertem Alkohol abgerieben. Nach Eröffnung der Leibeshöhle wurden die Fische pathologisch-anatomisch untersucht. Anschließend wurden Gewebsstücke mit einer sterilen Schere von den Organen für bakteriologische Untersuchungen entnommen. Weitere Gewebeproben wurden für histologische Zwecke entfernt. Die Mäuse wurden durch Genickschlag getötet sowie pathologisch-anatomisch und histologisch untersucht.

2.3 Bakteriologie

Teile von Leber, Niere, Milz, Muskulatur und Haut (Randbezirk von Geschwüren) wurden steril entnommen und mit einer sterilen Öse auf Standard- TSA- und Blutagar ausgestrichen.

Die Bebrütung der Nährböden erfolgte unter aeroben Bedingungen bei Zimmertemperatur (20°-22°C). Auf diesen Nährböden war ein deutliches Bakterienwachstum bereits nach 24-48 Stunden zu erkennen.

Die Untersuchung der Kolonien wurde nach Größe, Form, Wachstumsgeschwindigkeit sowie Hämolyse und Pigmentbildung untersucht.

Die isolierten Keime wurden auf Objektträgern ausgestrichen, hitzefixiert und nach Gram gefärbt oder nativ untersucht. Form und Größe der Bakterien sowie Beweglichkeit im Nativpräparat bei Phasenkontrastoptik wurden festgestellt. Zur weiteren Charakterisierung wurden folgende biochemische Verhaltensweisen untersucht:

Biochemische Differenzierung

Von diesen in ihren "Grundeigenschaften" untersuchten Kolonien wurden Subkulturen zur weiteren biochemischen Charakterisierung hergestellt.

Oxidasereaktion (Bactident Oxidase, Merck)

Nachweis des Enzyms Cytochromoxidase, welches reduziertes Cytochrom C oxidiert und dabei selbst reduziert wird. Eine Vio-

lettfärbung des Teststreifens zeigt eine positive Reaktion an.

Catalasereaktion

Nachweis des Enzyms Catalase, durch das H_2O_2 in H_2O und O_2 gespalten wird. Durch Zugabe von 3%igem H_2O_2 zu einer Bakterienmenge wird bei vorhandener Catalase Sauerstoff freigesetzt. Es kommt zu einer Blasen- bzw. Schaumbildung.

Die Durchführung der biochemischen Reaktionen erfolgte mit Hilfe gebrauchsfertiger Testsets. Dabei handelte es sich um "Api 20 E" und "Api 20 NE" (Bio Merieux, Frankreich) sowie um "Enterotube II" (Hoffmann La Roche, Schweiz). Diese Sets wurden mit ein- bis zwei Tage alten Kolonien beimpft. Die Inkubationszeit betrug 24 bis 72 Stunden. Die Inkubationstemperatur lag bei Zimmertemperatur (20° - $22^\circ C$). Mit den genannten Testsets sind folgende Reaktionen nachweisbar:

Aerober Glucoseabbau	(1,2)
Anaerober Glucoseabbau	(2,3)
Nachweis von Lysindecaboxylase	(1,3)
Ornithindecaboxylase	(1,3)
Argininidihydrolase	(1,2)
β -Galactosidase	(1,2)
Phenylalanindecaboxylase	(3)
Tryptophandecaboxylase	(1)
Gelatinase	(1,2)
Urease	(1,2,3)
Nitratreduktion	(2)
Voges-Proskauer-Reaktion	(1,3)
Dulcitol	(3)
Indolproduktion	(1,2,3)
Verwertung von Citrat als einziger Kohlenstoffquelle	(1,2,3)
Hydrolyse (β -Glucosidase)	(2)
H_2S -Produktion	(1,3)
Spaltung von Lactose	(3)
Saccharose	(1)
Mannose	(2)
Rhamnose	(1)
Melibiose	(1)
Arabinose	(1,2,3)
Adonitol	(3)
Mannitol	(1,2,3)
Sorbitol	(1,3)
Inositol	(1)
Amygdalin	(1)
N-acetylglucosamin	(2)

Maltose	(2)
Gluconat	(2)
Caprat	(2)
Adipat	(2)
Malat	(2)
Phenylacetat	(2)

Anm.: 1 = Api 20 E 2 = Api 20 NE
 3 = Enterotube II

Die Auswertung der Reaktionsergebnisse erfolgte mit Hilfe der von den Herstellern gelieferten Computer-Codierlisten und den Angaben aus BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology (1984 und 1986) sowie den Angaben von AUSTIN and AUSTIN (1987).

Resistenztest

Nach der Keimisolierung der erkrankten Schuppenkarpfen (K₁) wurde die Sensibilität gegenüber

Nitrofurantoin	100 µg
Tetracyclin	30 µg
Chloramphenicol	30 µg
Ampicillin	10 µg
Gentamycin	10 µg
Erythromycin	15 µg
Penicillin G	10 µg
Sulfamethoxazol	23,75 µg + Trimethoprim 1,25 µg

geprüft (BECTON DICKINSON).

In 5 ml sterilem PBS wurde eine kleine Menge von Bakterien homogenisiert. Von dieser Bakteriensuspension wurden 0,5 ml auf Standard-Nährboden ausgespatelt. Papierblättchen, die mit den oben genannten Antibioticalösungen beträufelt waren, wurden auf den beimpften Nährboden gelegt. Die Bebrütung erfolgte bei 20°C für 24 Stunden. Die Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber dem Antibioticum wurde je nach Größe des Hemmhof-Durchmessers beurteilt:

- ca. 1 - 1,5 cm Durchmesser +
- ca. 1,5 - 2,5 cm Durchmesser ++
- ca. 2,8 - 3,5 cm Durchmesser +++

Wenn sich am nächsten Tag kein Hof um das Plättchen ausgebildet hatte, so wurde der Keim als resistent bezeichnet.

Hämolysetest

Für den Hämolysetest wurde Columbia-Agar mit 2% Forellenblut verwendet. Dieser Nährboden wurde wie folgt hergestellt:

1 ml steril entnommenes heparinisiertes Blut von Regenbogenforellen (*Salmo gairdneri*) wurde für 15 Minuten bei 3000 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Der Überstand wurde vorsichtig abpipetiert und verworfen. Die Erythrozyten wurden in 5 ml sterilem PBS gewaschen. Nach erneuter 10minütiger Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen pro Minute wurden die gepackten Erythrozyten in 1 ml PBS suspendiert. Diese Erythrozytensuspension wurde dem autoklavierten und auf 45°C abgekühlten Columbia-Agar beigemischt und in Petrischalen gegossen. Die Platten wurden mit Bakterienisolaten beimpft und bei 20°C 24 Stunden bebrütet. Danach erfolgte die Auswertung der Hämolysenhöfe. Als positiv wurden helle Zonen um den Impfstrich bewertet (β -Hämolys).

Bakterienzahlbestimmung durch Ausspateln auf Standard-Agar-Platten

Sterile Standard-Agar-Platten wurden mit 0,1 ml einer 1:10 Verdünnung des Bakterienisolates beimpft, indem sie mit einem sterilen Spatel auf der Agar-Platte gleichmäßig verteilt wurde. Die Verdünnungen 1:1000, 1:10.000 und 1:1.000.000 wurden mit sterilem PBS hergestellt. Die Bebrütung erfolgte bei 22°C für 24 Stunden. Die Zahl der Bakterienkolonien auf den Platten wurde ermittelt und unter Berücksichtigung der Verdünnung und des aufgebrauchten Probenvolumens die Keimzahl errechnet.

2.4 Histologie

Lichtmikroskopie

Teile von Niere, Leber, Milz, Herz, Kiemen, Schwimmblase, Muskulatur, Haut, Darm und Gehirn der Fische, bzw. Nieren, Leber, Milz, Herz, Darm, Lunge und Gehirn der Mäuse wurden in 5%igem gepufferten Formalin fixiert und in Paraplast (R) eingebettet.

5 μ m dicke Schnitte wurden mit H.E. (Hämatoxylin-Eosin) gefärbt, bedarfsweise wurden die modifizierte Gram-Färbung nach BROWN-BRENN, die PAS- und die Giemsa-Färbung angewandt.

2.5 Methodik zur Produktion des Zellextraktes von *Aeromonas hydrophila*

100 ml steriler Caso-Bouillon wurden mit *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂, welches von den natürlich erkrankten Fischen aus Griechenland stammte, beimpft. Nach 20 Stunden Inkubation bei 20°-22°C wurde diese Bakteriensuspension bei 10.000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten und bei 10°C abzentrifugiert. Der Überstand wurde steril filtriert (Sartorius MIWISART NML Porengröße 0,2 µm).

Das Sediment wurde nach der oben genannten Zentrifugation in 5 ml steriles PBS gebracht und 2 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Nach dieser Behandlung wurde es bei 12.000 Umdrehungen pro Minute für 5 Minuten und bei 10°C abzentrifugiert. Der Überstand wurde steril filtriert. Diese, möglicherweise Endotoxine enthaltende Flüssigkeit, wurde als "Zellextrakt" bezeichnet.

3. Versuche

3.1 Zweck der Versuche

In den folgenden Versuchen wurde

1. die Bakteriensuspension von

<i>Aeromonas hydrophila</i> Isolat	123/12/Ni
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Isolat	123/12/Mi/a ₁
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat	123/18/Ha/a ₁
<i>Pseudomonas putrefaciens</i> Isolat	123/9/Ha/a ₁
<i>Flavobacterium balustinum</i> Isolat	123/17/Le/a ₁
<i>Acinetobacter</i> sp Isolat	123/17/Le/a ₁

- von natürlich erkrankten Schuppenkarpfen aus Griechenland isoliert - auf Pathogenität beim Spiegelkarpfen s.c. und i.p. (Versuch 1) untersucht,

2. der Stamm *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ auf Pathogenität beim Spiegelkarpfen nach den unterschiedlichsten Applikationsformen (Versuch 2) geprüft,

3. die Toxinwirkung von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ auf Spiegelkarpfen unter verschiedenen Haltungstemperaturen (Versuche 3,4,5,6) getestet,

4. die Toxinwirkung von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ auf Mäuse (Versuche 7,8) überprüft.

3.2 Versuchsbedingungen

Die Spiegelkarpfen (K₁) wurden eine Woche vor Versuchsbeginn in gut durchlüftete 50 l Glasaquarien verbracht, um sich dort zu akklimatisieren. Zur Wasserversorgung wurde Münchener Leitungswasser mit einem Härtegrad von 16,4° dH und einer Temperatur von 12°C oder 20°C verwendet. Die Aquarien wurden im Durchflußsystem mit entchlortem Wasser gespeist. Die Fütterung der Fische erfolgte mit handelsüblichem pelletiertem Karpfenfutter.

Die NMRI Albino-Mäuse wurden eine Woche vor Versuchsbeginn in ein Zimmer mit 22°C gebracht und ihre Fütterung erfolgte mit pelletiertem Mäusefutter.

3.3 Inokulation der Versuchstiere

3.3.1 Infektionsversuche

3.3.1.1 Erster Versuch

24-stündig bebrütete Reinkulturen von

<i>Aeromonas hydrophila</i> Isolat	123/12/Ni
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Isolat	123/12/Mi/a ₁
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat	123/18/Ha/a ₁
<i>Pseudomonas putrefaciens</i> Isolat	123/9/Ha/a ₁
<i>Flavobacterium balustinum</i> Isolat	123/17/Le/a ₁
<i>Acinetobacter</i> sp Isolat	123/17/Le/a ₂

wurden jeweils einzeln in sterilem PBS suspendiert und gemischt. Danach wurden die Gebrauchsdosen eingestellt (Tabelle 8, Versuch 1). Die nüchternen Fische wurden mit einer 0,007%igen MS 222 (R) Badlösung betäubt und mit 0,2 ml Bakteriensuspension subcutan oder intraperitoneal injiziert. Die Kontrollfische wurden analog mit sterilem PBS gespritzt.

3.3.1.2 Zweiter Versuch

24-stündig bebrütete Bakterienkultur von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ wurde in sterilem PBS suspendiert und die Gebrauchsdosis eingestellt (Tabelle 6, V. 2). Die nüchternen Fische wurden mit einer 0,007%igen MS 222 (R) Badlösung betäubt und mit 0,2 ml Bakteriensuspension s.c. injiziert oder

in die skarifizierte Haut eingerieben. Die Kontrollfische wurden analog mit sterilem PBS behandelt.

3.3.2 Toxinversuche

3.3.2.1 Toxinversuche mit Karpfen

Für die Toxinversuche wurde das Material wie in III 2.5 beschrieben hergestellt. Dann erfolgte die Injektion mit 0,1 ml pro Fisch s.c. auf der Körperseite der Spiegelkarpfen (Tabelle 7, V. 3,4,5,6).

Die Kontrollfische wurden analog mit steriler Caso-Bouillon behandelt.

3.3.2.2 Toxinversuche mit Mäusen

Für die Toxinversuche wurde das Material wie in III 2.5 beschrieben hergestellt. Dann erfolgte die Injektion mit 0,1 ml i.p. pro Maus (Tabelle 8, V. 7,8).

Die Kontrollmäuse wurden analog mit steriler Caso-Bouillon behandelt.

3.4 Versuchsansätze
3.4.1 Infektionsversuche

Tabelle 6

Versuch 1

Versuch 2

Tierart	Spiegelkarpfen	Spiegelkarpfen
Applikationsart	s.c., i.p.	s.c. skarifiziert
Antigen	Aeromonas hydrophila Isolat 123/12/Ni Pseudomonas fluorescens Isolat 123/12/Mi/a ₁ Pseudomonas aeruginosa Isolat 123/18/Ha/a ₁ Pseudomonas putrefaciens Isolat 123/9/Ha/a ₁ Flavobacterium balustinum Isolat 123/17/Le/a ₁ Acinetobacter s.p. 123/17/Le/a ₂	
Impfdosis	6,6 · 10 ⁸ Bakterien in 0,2 ml pro Fisch	1,7 · 10 ¹⁰ Bakterien in 0,2 ml pro Fisch
Anzahl der infizierten Fische	8 s.c. 2 i.p.	8 s.c. 8 skarifiziert
Anzahl der Kontrollfische	2 (1 s.c. 1 i.p.)	4 (2 s.c. 2 skarifiziert)
Alter	einsömmerig	einsömmerig
Länge	12 - 15 cm	10 - 14 cm
Gewicht	45 - 58 g	40 - 54 g
haltungstemperatur	12°C	12°C
Versuchsdauer	20 Tage	14 Tage

3.4.2 Toxinversuche

3.4.2.1 Toxinversuche mit Karpfen

Tabelle 7

Versuch 3 Versuch 4 Versuch 5 Versuch 6

Tierart	Spiegelkarpfen	Spiegelkarpfen	Spiegelkarpfen	Spiegelkarpfen
Applikationsart	S.C.	S.C.	S.C.	S.C.
Antigen	steril filtrierter Überstand (III 2.5)	steril filtrierter Zellextrakt (III 2.5)	steril filtrierter Überstand (III 2.5)	steril filtrierter Zellextrakt (III 2.5)
Dosis	0,1 ml pro Fisch nach 12 Tagen Wiederholung	0,1 ml pro Fisch nach 12 Tagen Wiederholung	0,1 pro Fisch	0,1 pro Fisch
Anzahl der in- fizierten Fische	5	3	3	3
Anzahl der Kontrollfische	2	2	2	2
Alter	einsömmerig	einsömmerig	einsömmerig	einsömmerig
Länge	8 - 11 cm	8 - 10 cm	8 - 11 cm	8 - 10 cm
Gewicht	30 - 40 g	30 - 36 g	30 - 40 g	30 - 36 g
Halbungstemperatur	12°C	12°C	20°C	20°C
Versuchsdauer	15 Tage	15 Tage	5 Tage	5 Tage

3.4.2.2. Toxinversuche mit Mäusen

Tabelle 8

Versuch 7		Versuch 8
Tierart	NMRI Albino-Mäuse	NMRI Albino-Mäuse
Applikationsart	i. p.	i. p.
Antigen	steril filtrierter Überstand (III 2.5)	steril filtrierter Zellextrakt (III 2.5)
Dosis	0,1 ml pro Maus Wiederholung nach 12 Tagen	0,1 ml pro Maus Wiederholung nach 12 Tagen
Anzahl infizierter Mäuse	2	2
Anzahl Kontrollmäuse	1	1
Alter	4 Monate	4 Monate
Gewicht	25 g	25 g
Haltungstemperatur	22°C	22°C
Versuchsdauer	15 Tage	15 Tage

Während der Versuche wurden alle Tiere täglich beobachtet. Eventuelle Verhaltensstörungen, äußerliche Veränderungen und Krankheitssymptome wurden protokolliert.

Fische im moribunden Zustand wurden mit MS 222 (R) in Überdosis getötet und untersucht. Die in der Nacht gestorbenen Fische wurden morgens sofort untersucht.

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der natürlich erkrankten Schuppenkarpfen

4.1.1 Symptomatologie und pathologisch-anatomisches Bild

Während unserer Besichtigung der betroffenen Fischzucht verhielten sich die Fische apathisch und waren appetitlos. Seitliches Schwimmen wurde beobachtet und ein Fluchtreflex war beim Einfangen der Fische kaum noch vorhanden. Die erkrankten Fische zeigten äußerlich hämorrhagische Geschwüre bis zu einem Durchmesser von 1-3 cm.

Die Geschwüre begannen meist als lokale Schuppensträube, schließlich trat Schuppenverlust auf und Hämorrhagien um nekrotische Zentren (Abb. 2). Rötungen um Brustflossen sowie im Bereich der Afteröffnungen waren sichtbar, ebenso wie ein Exophthalmus. Kiemenschwellung und ein geringgradiger Befall mit Dactylogyrus wurde bei allen Fischen beobachtet.

Bei der Sektion der Fische waren eine deutliche allgemeine Anämie, fibrinöse Beläge auf dem Bauchfell, mittelgradiger hämorrhagischer Aszites, Milz- und Nierenschwellung, Leber mit hellbraunen, gelblichen oder roten Bezirken auf der Oberfläche zu sehen. Bei allen Fischen wurden Petechien im Darm beobachtet.

4.1.2 Bakteriologie

4.1.2.1 Keimisolierung

Die 26 erkrankten Schuppenkarpfen erbrachten sämtlich positive bakteriologische Befunde.

Tabelle 9

Daten und Gesamtzahl der Keimisolierungen aus den erkrankten Schuppenkarpfen

Nummer	Länge cm	Gewicht gr	Geschlecht	getötet am	Keimisolierung aus Haut, Muskulatur, Niere, Schwimmblase, Leber und Milz
354/1	26	230	♂	14.12.87	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i> , <i>Ps. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Flavobacterium balustinum</i>
354/2	25	222	♀	14.12.87	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i>
354/3	27	234	♂	14.12.87	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
354/4	23	218	♀	18.12.87*	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i>
354/5	24	220	♂	18.12.87	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.
354/6	25	225	♀	23.12.87	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Flavobacterium balustinum</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.
123/1	27	210	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>
123/2	25	195	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
123/3	28	230	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.
123/4	26	215	♀	12.4.88	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i>

123/5	28	234	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>
123/6	26	210	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i>
123/7	27	215	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
123/8	27	220	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>
123/9	25	200	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>
123/10	26	205	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
123/11	27	220	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
123/12	29	234	♀	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
123/13	25	198	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
123/14	26	200	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
123/15	27	215	♂	12.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>
123/16	27	220	♀	14.4.88*	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i>
123/17	23	160	♂	22.4.88	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.
123/18	25	185	♂	22.4.88	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas</i> sp.
123/19	22	150	♂	22.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Flavobacterium balustinum</i> , <i>Acinetobacter</i> sp.
123/20	22	140	♂	22.4.88	<i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Pseudomonas putrefaciens</i>

* gestorben

In dieser Arbeit wurden insgesamt 26 natürlich erkrankte Schuppenkarpfen untersucht. Die Herkunft der Fische und der genaue Zeitpunkt der Entnahme ist in III 1.1 wiedergegeben.

66 Keime, die aus Haut, Muskulatur, Niere, Schwimmblase, Leber und Milz isoliert wurden, wurden aufgrund ihrer morphologischen und kulturellen Eigenschaften den in den folgenden Kapiteln genannten Bakteriengruppen zugeordnet. Bei den Bakterien wurde auch ihr biochemisches Reaktionsverhalten untersucht. Die Ergebnisse werden in den folgenden Abschnitten dargestellt.

4.1.2.1.a *Aeromonas hydrophila*

In 88% der erkrankten Schuppenkarpfen fanden sich gramnegative, oxidasepositive, bewegliche Stäbchen, die als *Aeromonas hydrophila* biochemisch identifiziert wurden. Auf Standard-I-Nähr- und Trypton-Soja-Agar erschienen sie nach 48 Stunden Bebrütsdauer als feine, stecknadelkopfgroße Kolonien. Auf Blutagar verursachten sie Hämolyse. Eine Aufstellung der biochemischen Reaktionen dieser Keime ergibt die Tabelle 10.

4.1.2.1.b *Pseudomonas* sp.

29 untersuchte Keime konnten als Pseudomonaden identifiziert werden. Davon waren 8 Stämme H_2S positiv und wurden deshalb als *Pseudomonas putrefaciens* angesehen. Diese Keime wuchsen auf Standard-I-Nähragar als große helle, ockerfarbene Kolonien.

9 Stämme waren, aufgrund ihres biochemischen Verhaltens, zur Gruppe *Pseudomonas aeruginosa* zu rechnen und 9 andere Stämme wurden als *Pseudomonas fluorescens* bezeichnet. Alle diese Stämme zeigten auf Standard-I-Nähr- und Trypton-Soja-Agar nach 48 Stunden Bebrütsdauer flache, glänzende fluoreszierende mittelgroße Kolonien.

Die verbleibenden 3 Stämme waren innerhalb dieser Gruppe nicht näher einzuordnen und wurden daher als *Pseudomonas* sp. bezeichnet.

Das biochemische Verhalten der isolierten Pseudomonaden ergibt die Tabelle 10.

4.1.2.1.c *Flavobacterium balustinum*

9 untersuchte Keime wurden als *Flavobacterium balustinum* gerechnet. Diese Keime waren gramnegative, oxidasepositive, unbewegliche gerade Stäbchen. Auf Standard-I-Nähragar gewachsene Kolonien waren hellorange und groß. Die biochemischen Eigenschaften von *Flavobacterium balustinum* sind in der Tabelle 10 dargestellt.

4.1.2.1.d *Acinetobacter* sp.

In 4 Fällen wurden Keime als *Acinetobacter* identifiziert. Diese Keime waren gramnegative, oxidasenegative unbewegliche Stäbchen, die eine positive Citratreaktion zeigten. Alle biochemischen Reaktionen von *Acinetobacter* sp. sind in der Tabelle 10 zu sehen.

Die virologischen Untersuchungen, die freundlicherweise von Herrn Prof. Ahne durchgeführt wurden, verliefen alle negativ.

4.1.2.2 Biochemische Reaktionen der aus natürlich erkrankten Schuppenkarpfen isolierten Bakterien

Tabelle 10

	Aeromonas hydrophila	Pseudomonas putrefaciens	Pseudomonas aeruginosa	Pseudomonas fluorescens	Pseudomonas sp.	Flavobacterium balustinum	Acinetobacter sp.
	eigene Isolate (23)	eigene Isolate (8)	eigene Isolate (9)	eigene Isolate (9)	eigene Isolate (3)	eigene Isolate (9)	eigene Isolate (5)
Keimform	plumpe gramnegative Stäbchen	gerade, schlanke gramnegative Stäbchen	gerade gramnegative Stäbchen	gerade gramnegative Stäbchen	gerade, schlanke gramnegative Stäbchen	gerade, schlanke gramnegative Stäbchen	gramnegative Stäbchen
Oxidase	+	+	+	+	+	+	-
Beweglichkeit	+	+	+	+	+	-	-
Catalase	+	+	+	+	+	+	+
Glucose aerob	+	-	6/3	+	-	+	-
Glucose anaerob	+	.	.	.	.	.	-
Lysin-decarboxylase	+	-	-	-	-	-	-
Ornithin-decarboxylase	-	+	-	-	-	-	-
Arginin-dihydrolase	+	-	+	+	1/3	-	-
β -Galactosidase	+	-	-	-	-	-	-
Phenylalanin-desaminase	.	.	.	.	.	.	-
Tryptophan-desaminase	-	-	-	-	-	-	-
Gelatinase	+	3/5	7/2	7/1	-	+	-
Urease	-	-	-	-	-	6/3	-
Nitratreduktion	+	.	.	+	.	.	-
Voges-Proskauer	20/3	-	1/8	3/6	1/3	-	-
Dulcitol	.	.	.	.	.	.	-
Indolproduktion	+	-	-	-	-	+	-
Citrat	15/8	+	+	+	-	+	+
Hydrolyse (β -Glucosidase)	+	.	.	-	.	.	-
H ₂ S-Bildung	-	+	-	-	-	-	-
Lactose	.	.	.	.	.	.	-
Saccharose	+	-	-	-	-	-	-
Mannose	+	.	.	+	.	.	-

Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	5/18	-	3/6	4/5	-	-	-
Arabinose	12/11	-	6/3	1/8	-	-	-
Adonitol	.	.	.	.	.	.	.
Mannitol	+	-	-	+	-	-	-
Sorbitol	11/12	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-
Amygdalin	17/6	-	-	-	-	-	-
N-acetyl- glucosamin	+	.	.	+	.	.	-
Maltose	+	.	.	-	.	.	-
Gluconat	+	.	.	+	.	.	-
Caprat	+	.	.	+	.	.	+
Adipat	-	.	.	-	.	.	+
Malat	+	.	.	+	.	.	+
Phenylacetat	-	.	.	-	.	.	+
Hämolyse	+	-	-	-	.	-	-

Legende

Zahl vor dem Schrägstrich: Anzahl positiver Stämme
 Zahl nach dem Schrägstrich: Anzahl negativer Stämme
 + = positives Ergebnis
 - = negatives Ergebnis
 . = nicht geprüft

4.1.2.3 Antibiogramm

Tabelle 11

Antibiogramm von Keimen, die aus den Organen erkrankter Schuppenkarpfen isoliert wurden.

Keimisolierung
aus den Orga-
nen erkrankter
Schuppen-
karpfen

	F / M		E		TE		P		C		SxT		AM		GM	
	E	R	E	R	E	R	E	R	E	R	E	R	E	R	E	R
Aeromonas hydrophila	++		+		++			-	+++		+			-	++	
Pseudomonas fluorescens		-		-	+			-		-		-		-	++	
Pseudomonas aeruginosa		-		-	++			-	+			-		-	++	
Pseudomonas putrefaciens	++		+++		++			-	+++		+			-	+++	
Flavobacterium bacterium																
lustinum		-		-		-		-		-		-		-		-
Acinetobacter sp.		-	++		+			-		-	++			-	+++	

F/M	= Nitrofurantoin	100 µg
TE	= Tetracyclin	30 µg
C	= Chloramphenicol	30 µg
AM	= Ampicillin	10 µg
GM	= Gentamycin	10 µg
E	= Erythromycin	15 µg
P	= Penicillin G	10 µg
SxT	= Sulfamethoxazol	23,75 µg +
	+ Trimethoprim	1,25 µg

E = Empfindlich
+ = schwach empfindlich
++ = empfindlich
+++ = noch empfindlich
R = Resistent

4.1.2.4 Verteilung der aus natürlich erkrankten Schuppenkarpfen isolierten Bakterien

Diagramm 1: Prozentuale Häufigkeit der isolierten Keime
bei den untersuchten Schuppenkarpfen (n = 26)



4.1.3 Histologische Befunde bei erkrankten Schuppenkarpfen aus Griechenland

Alle untersuchten Fische hatten Geschwüre mit hämorrhagischem Rand in der Haut und wiesen die folgenden pathologischen Veränderungen auf:

a) Haut

Bei allen Fischen wurden tiefgreifende Läsionen mit nekrotischen Zentren und hämorrhagischem Randbezirk gefunden. Nekrose mit Verlust der Epidermis und Dermis sowie Übergreifen auf die darunterliegenden Subcutis und Muskulatur trat im Zentrum des Geschwürs auf. Am Randbezirk wurde in der Dermis und Muskulatur eine starke Entzündung mit Granulozyten, Granulationsgewebe, Einsprossung von Kapillaren, Ödeme und Makrophagenansammlungen beobachtet.

b) Milz

Herdförmige Nekrosen in der weißen und roten Pulpa wurden bei 3 Fischen beobachtet. Bei 6 Fischen waren Makrophagenherde und bei 2 eine Entspeicherung der Milz aufgetreten.

c) Niere

Herdförmige Nekrosen der Glomerula wurden bei 3 Fischen, eine Tubulonephrose bei 4 Fischen beobachtet.

Viellagige geschichtete Granulome mit nekrotischen Einschlüssen, die als Folge einer Infektion mit *Sanguinicola* sp. in den Nieren entstanden sind, wurden bei 3 Fischen festgestellt. Die Diagnose *Sanguinicola* wurde anhand der Reste von Eiern und Augenpigmentflecken gestellt.

d) Leber

Diffuse Vakuolisierung der Hepatozyten und herdförmige Nekrosen wurden bei 6 Fischen gefunden (Abb. 7). Im intrahepatischen Pankreas trat eine Aufhellung des Gewebes mit Verlust der Zymogengranula und teilweise Ablagerung von eosinophilem homogenem Material auf. Auch Granulome in der Leber und im intrahepatischen Pankreas waren vorhanden.

e) Herz

Eine Perikarditis mit Granulationsgewebe trat bei 2 Fischen auf. Eine herdförmige Myokarditis und Granulationsgewebe im Bulbus mit Einlagerung von Melano- und Ceroidmakrophagenzentren wurde bei einigen Fischen festgestellt. Bei 2 Fischen wurden abgekapselte Granulome gefunden, die Reste von *Sanguinicola* sp. aufwiesen.

f) Darm

Bei 5 Fischen wurden vermehrt nekrotische Epithelzellen der Darmmukosa beobachtet. Eine lymphozytäre Infiltration der Lamina propria und der Submucosa wurde häufig bei diesen oder anderen Fischen gefunden (Abb. 8).

g) Schwimmblase

Eine geringgradige granulozytäre Entzündung der Schwimmblase wurde bei 2 Fischen beobachtet.

h) Kiemen

Eine Ablösung des respiratorischen Epithels von der Basalmembran war bei 5 Fischen vorhanden, 2 Fische wiesen herdförmige Nekrosen der Sekundärlamellen auf.

4.2 Versuchsergebnisse

4.2.1 Infektionsversuche

4.2.1.1 Versuch 1 (siehe Tabelle 12)

4.2.1.1.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Pathogenität einer Bakteriensuspension von

<i>Aeromonas hydrophila</i> Isolat	123/12/Ni
<i>Pseudomonas fluorescens</i> Isolat	123/12/Mi/a ₁
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Isolat	123/18/Ha/a ₁
<i>Pseudomonas putrefaciens</i> Isolat	123/9/Ha/a ₁
<i>Flavobacterium balustinum</i> Isolat	123/17/Le/a ₁
<i>Acinetobacter</i> sp. Isolat	123/17/Le/a ₂

bei 8 s.c. und 2 i.p. infizierten Spiegelkarpfen überprüft. Mit Ausnahme von 2 s.c. und einem i.p. infizierten Fischen waren sie bis zum 20. Tag post infectionem klinisch gesund. 2 s.c. infizierte Fische erkrankten und starben nach 6 und 9 Tagen. Bei diesen Fischen fiel eine Dunkelfärbung der Haut um die Injektionsstelle und leichter Exophthalmus auf. Ein i.p. infizierter Fisch wurde nach 7 Tagen getötet. Dieser Fisch schwamm an der Wasseroberfläche und seitlich. Die 7 restlichen infizierten Karpfen sowie auch die 2 Kontrollfische zeigten keine augenscheinlichen Veränderungen.

4.2.1.1.b Pathologisch-anatomisches Bild

Bei den zwei gestorbenen Fischen waren Milz, Leber und Niere leicht geschwollen. Auf der Schwimmblase und auf den Darmwänden waren Petechien zu beobachten. Ein erkrankter Fisch, der nach 7 Tagen getötet wurde, zeigte das gleiche pathologisch-anatomische Bild. Bei den restlichen Spiegelkarpfen war nur eine leicht geschwollene Milz zu beobachten. Die Kontrollfische wiesen keine Veränderung auf.

4.2.1.1.c Bakteriologie (siehe Tabelle 12)

In dem Versuch wurden 8 s.c. und 2 i.p. Spiegelkarpfen infiziert. Alle Fische wurden bakteriologisch untersucht. Durch Anzucht konnten in 8 Fällen *Aeromonas hydrophila*, in 1 Fall *Pseudomonas fluorescens*, in 6 Fällen *Pseudomonas putrefaciens*, in 7 Fällen *Flavobacterium balustinum* und in 1 Fall *Acinetobacter* sp. isoliert werden. *Pseudomonas aeruginosa* wurde aus keinem Fisch isoliert.

Tabelle 12

Symptomatik und Bakteriologie der im Versuch 1 s.c. und i.p.
mit der Bakteriensuspension von
Aeromonas hydrophila
Pseudomonas fluorescens
Pseudomonas aeruginosa
Pseudomonas putrefaciens
Flavobacterium balustinum
Acinetobacter sp.
infizierten Spiegelkarpfen

Applikations- art	s.c.	i.p.	s.c.	s.c.	s.c.	s.c.	s.c.	s.c.	s.c.	i.p.	
Fisch Nr.	156/1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	ins- gesamt
Tage post infectionem	6	7	9	20	20	20	20	20	20	20	
gestorben	x		x								2
getötet		x		x	x	x	x	x	x	x	8
Äußere Symptome											
Exophthalmus	x	x	x								3
Dunkelfär- bung der Haut um die Injek- tionsstelle	x	x	x								3
Geschwüre											0
Innere Symptome											
Milz- schwellung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	10
Leber- schwellung	x	x	x								3
Nieren- schwellung	x	x	x								3
Petechien auf den Darm- wänden	x		x								2

Petechien
auf der
Schwimm-
blase

x x x

3

Bakteriologie

Anzucht

Aeromonas	Ha,	Mi,	Ha,		Ha,	Ni,	Mi,	Mi,	Mi,	8
hydrophila	Schw,	Schw,	Mi,		Mi,	Mi,	Ni,	Ni,		
	Ni,	Ni,	Ni,		Ni,		Le	Le		
	Le	Le	Le		Le					

Pseudomo-
nas fluo-
rescens

Ha

1

Pseudomo-
nas aeru-
ginosa

0

Pseudomo-	Le,	Mi,	Ha,		Le	Ni,	Mi,			6
nas putre-	Ni	Schw,	Mi,			Mi	Le			
faciens		Ni,	Ni,							
		Le	Le							

Flavobac-		Mi	Ha,	Ha,	Le		Mi,	Mi,	Mi	7
terium ba-			Mi,	Mi,			Le	Le		
lustinum			Ni,	Le						
			Le							

Acinetobac-	Ha,									1
ter sp.	Schw,									
	Ni,									
	Le									

Legende

Ha = Haut, Schw = Schwimmblase, Mi = Milz, Ni = Niere, L = Leber

4.2.1.2 Versuch_2

4.2.1.2.a Klinischer Verlauf und Symptomatik (siehe Tabelle 13)

In diesem Versuch wurde die Pathogenität der *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ bei 8 s.c. und 8 in die skarifizierte Haut infizierten Spiegelkarpfen überprüft. 2 Tage nach der Injektion waren 2 s.c. und 1 in die skarifizierte Haut infizierte Fische verendet. Diese 3 Fische hatten eine große hämorrhagische Zone um die Injektionsstelle mit einem flachen kleinen hämorrhagischen Geschwür in der Mitte und Rötungen im Bereich der Afteröffnung gezeigt. Außerdem war ein Exophthalmus bei diesen Fischen zu beobachten (Abb. 3).

Die 6 restlichen s.c. infizierten Fische sowie auch die 7 in die skarifizierte Haut infizierten Fische zeigten am zweiten Tag diffuse Rötungen der Haut von ca. 2 bis 3 cm Durchmesser. Nach 3 Tagen wiesen alle Fische deutliche Geschwüre auf und 3 s.c. infizierte Fische wurden getötet. Sie zeigten auch eine Rötung im Bereich der Afteröffnung und einen Exophthalmus. Nach 7 Tagen starb ein s.c. infizierter Fisch. Der Gesundheitszustand der Fische verschlechterte sich von Tag zu Tag, wobei sich tiefe und größer werdende Geschwüre bildeten.

Nach 11 Tagen wurden 1 s.c. und 1 in die Haut skarifiziert infizierter Fisch getötet. Das Geschwür bei dem s.c. infizierten Fisch war größer und tiefer als bei dem skarifiziert infizierten Fisch (Abb. 4, 5).

Nach 12 Tagen wurden noch 3 skarifiziert infizierte Fische getötet und nach 14 Tagen wurde der Versuch beendet und die restlichen erkrankten Fische getötet. Die Kontrollfische wiesen keine Erkrankungserscheinungen auf.

4.2.1.2.b Pathologisch-anatomisches Bild

Da das pathologisch-anatomische Bild von s.c. und skarifizierten Fischen keine auffallenden Unterschiede ergab, außer daß bei den s.c. infizierten Fischen die Geschwüre größer waren, gelten die folgenden Befunde für die beiden Fischgruppen:

Bei den nach 2 Tagen verendeten Fischen wurden ein mittelgradiger Aszites und fibrinöse Beläge auf dem Bauchfell beobachtet. Diese Fische zeigten auch eine Schwellung der Niere, Milz und Leber. Petechien traten auf der Leber und in der Darmmucosa auf.

Bei 9 getöteten Fischen wurden auch ein mittelgradiger hämorrhagischer Aszites und fibrinöse Beläge auf dem Bauchfell festgestellt. Alle Fische zeigten eine hochgradige Schwellung der Niere, 10 davon auch eine deutliche Schwellung von Milz und Leber. Bei 10 Fischen traten Petechien auf der Leber, bei 8 auf der Schwimmblase und bei 11 auf der Darmmucosa auf. 10 Fische zeigten eine deutliche Anämie. Die Kontrollfische wiesen keine Erkrankungserscheinungen auf.

4.2.1.2.c Bakteriologie (siehe Tabelle 13)

In diesem Versuch wurden 8 Spiegelkarpfen s.c. und 8 in die Haut skarifiziert infiziert. Alle Fische wurden bakteriologisch untersucht. Durch Anzucht konnten in allen Fällen *Aeromonas hydrophila*, in 5 Fällen *Flavobacterium* sp., in 2 Fällen *Pseudomonas putrefaciens* und in 1 Fall *Pseudomonas cepacia* isoliert werden.

4.2.1.2.d Histologische Befunde (siehe Tabelle 14)

8 s.c., 8 in die skarifizierte Haut infizierte Fische sowie auch 4 Kontrollfische wurden histologisch untersucht. Im Folgenden werden die histologischen Befunde der Organe infizierter Fische beschrieben. Da die histopathologischen Befunde an den Organen, insbesondere an der Haut, von skarifizierten und s.c. infizierten Fischen keine auffallenden Unterschiede erkennen lassen, gelten die im Folgenden dargestellten Befunde für beide Fischgruppen. Die Kontrollfische wiesen keine pathologischen Veränderungen auf.

1) Haut

2 Tage nach der Infektion wurden bei den 3 gestorbenen Fischen eine starke Hyperämie in der Umgebung eines nekrotischen Epidermisbezirktes beobachtet. Ödeme, Hämorrhagien, Entzündungen mit zahlreichen Lymphozyten und Makrophagen und massenhafte Ansammlungen von Bakterien in der Dermis und der darunter liegenden Muskulatur wurden festgestellt. Nach 3 Tagen wurden ein Verlust der Epidermis und diffuse Nekrosen der Dermis und Muskelfasern beobachtet.

Die Haut der nach 7 Tagen gestorbenen Fische war durch einen Verlust der Epidermis und Dermis und durch eine starke entzündliche Reaktion bis tief in die Muskulatur im Zentrum des Geschwürs gekennzeichnet. Am Randbezirk wurde in der Epidermis eine starke Proliferation der Schleimzellen mit auffallender Schleimsekretion und eine Hyperplasie des Stratum

germinativums beobachtet (Abb. 10). In diesem Bereich lag auch eine Vermehrung der Schreckstoffzellen. Im Übergang zwischen Dermis und Hypodermis wurden Ödeme und Makrophagenansammlungen festgestellt. In der Muskulatur waren massive Blutungen und ein scholliger Zerfall der Muskelfasern.

Nach 11 Tagen wurde Granulationsgewebe im Hypodermis-Dermis-Bereich festgestellt. Dieses Granulationsgewebe wölbte die Epidermis auf (Abb. 11).

Nach 14 Tagen lag im Zentrum immer noch eine Nekrose mit Verlust von Epidermis und Dermis, Muskelfasernekrose und Granulationsgewebe am Randbezirk des Geschwürs vor (Abb. 12).

2) Milz

Bei 5 Fischen traten herdförmige Nekrosen der weißen und roten Pulpa und bei 8 Fischen massenhafte Makrophagen in periarteriolen lymphatischen Scheiden auf. Eine lymphozytäre Milz-atrophie und zahlreiche Makrophagen in periarteriolen lymphatischen Scheiden wurden nach 11 Tagen post infectionem bei einem Fisch festgestellt. Bei einem nach 14 Tagen getöteten Fisch fielen Gefäße mit hyalinen Thromben auf.

3) Niere

Bei den 3 nach 2 Tagen gestorbenen Fischen war in den Kapillarschlingen der Glomerula hyalines Material sowie einzelne Tubulonekrosen festzustellen.

In den Lumina der Tubuli traten vereinzelt hyaline Zylinder auf. Bei 2 nach 3 Tagen getöteten Fischen waren Tubuli in einzelnen Bereichen der Niere mit scholligem, teils granulärem oder homogenem eosinophilem Material ausgefüllt, teilweise unter vollständigem Verlust des Tubulusepithels.

In diesen veränderten Bereichen der Niere wurden auch Nekrosen im Interstitium sowie eine hochgradige Glomerulonephritis mit hochgradigen Nekrosen der Gefäßschlingen, des Mesangiums und Verlust der Bowman'schen Kapsel beobachtet.

Die nach 14 Tagen getöteten Fische zeigten eine Zunahme der Granulozytopoese mit unreifen Zellen, eine Auflockerung sowie eine Ansammlung von zahlreichen Makrophagen im hämatopoetischen Gewebe. Tubulonephrosen mit zum Teil beginnender peritubulärer Fibrose und Glomerula mit hyalinem Material im

Bowman'schen Raum sowie vereinzelte Schwellung und Degeneration des Mesangiums waren zu beobachten (Abb. 13).

4) Leber

Bei 3 nach 2 Tagen gestorbenen Fischen wurde eine herdförmige Leberdystrophie, teilweise mit Nekrosen unter Beteiligung zahlreicher Bakterien um Arteriolen festgestellt. Bei einem Fisch wurden einzelne abgekapselte Granulome im Pankreas beobachtet.

Nach 3 Tagen zeigten die Fische hochgradige Nekrosen.

Nach 11 und 12 Tagen wurden bei 3 Fischen herdförmige Nekrosen im Bereich der Gallengänge beobachtet.

Nach 14 Tagen traten perivaskuläre Ansammlungen von zahlreichen Makrophagen auf sowie eine geringgradige Degeneration des exokrinen Pankreas.

5) Herz

Bei den nach 2 Tagen verendeten Fischen wurden neben einem Perikardödem eine frische Perikarditis mit zahlreichen Makrophagen und Bakterien sowie eine frische Myokarditis beobachtet.

Nach 3 Tagen zeigten sich Blutungen im Übergang zwischen Epikard und Myokard mit Zerfall der Myozyten. Eine geringgradige Perikarditis wurde auch beobachtet.

Nach 7 Tagen waren zahlreiche Rodletzellen im Bulbus und eine Perikarditis zu beobachten.

Nach 14 Tagen trat eine hochgradige Myokarditis mit Myodegeneration, eine Perikarditis mit Perikardödem, Makrophagen und Extravasaten auf. Am Übergang zwischen Bulbus und Ventrikel im Epikard waren Ödeme, Blutungen und Extravasate zu erkennen.

6) Darm

Bei den nach 2 Tagen verstorbenen sowie auch bei den nach 3 Tagen getöteten Fischen wurden vereinzelte Nekrosen der Darmepithelzellen und vereinzelte Hämorrhagien beobachtet.

Nach 7 und 14 Tagen wurden ebenfalls vereinzelte Nekrosen von Epithelzellen festgestellt.

7) Schwimmblase

Ödeme, Hämorrhagien, Entzündungen und Makrophagenherde wurden bei 8 Fischen beobachtet. Nach 14 Tagen post infectionem zeigten die Fische Ödeme, chronische Entzündungen, Fibrozyten und Kapillareinsprossungen.

8) Kiemen

Degenerierende Kiemenepithelzellen im interlamellären Kryptenepithel traten bei 2 Fischen auf. Bei den übrigen Fischen wurden keine auffallenden pathologischen Veränderungen sichtbar.

Tabelle 14 Pathologische Histologie der in Versuch 2 mit *Aeromonas hydrophila* infizierten Fische
 Applikationsart S.C. in die Haut skarifiziert

	267												268												insgesamt	
	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	16	16
Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8										
Tage post infectionem	2	2	3	3	3	7	11	14	2	11	12	12	12	12	14	14									14	14
gestorben	x	x				x			x																4	4
getötet				x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x									12	12
Epidermis																									16	16
Nekrose	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									8	8
Hyperplasie																									11	11
Ödem	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x												11	11
Hämorrhagien	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x													16	16
Entzündung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									11	11
Makrophagen	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x													6	6
Bakterien	x	x	x	x	x				x																16	16
Nekrose	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									8	8
Granulationsgewebe									x	x															12	12
Ödem	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x											9	9
Makrophagen	x	x	x	x	x	x	x		x	x															16	16
Muskelfasernekrose	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									5	5
herdförmige Nekrosen der weißen und roten Pulpa	x	x	x						x																1	1
lymphozytäre Milztrophie																									8	8
Makrophagenzentren				x	x	x	x	x																	12	12
Tubuli	x	x	x	x					x																13	13
Nekrosen	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x									11	11
hyalines Material	x	x	x	x					x	x	x	x													6	6
Glomerula																									5	5
Nephritis				x	x	x																			5	5
zahlreiche Makrophagen im hämatopoetischen Gewebe									x																5	5

Haut

Milz

Niere

Applikationsart	s.c..																insgesamt
	267																
Fisch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	
Leberdystrophie	x	x							x					x	x	x	6
herdförmige Hepatozytennekrosen	x	x	x	x	x		x		x		x						9
Makrophagenzentren																	
Pankreasdegeneration						x								x	x	x	3
Perikarditis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				x	x	3
Perikardödem	x	x						x						x	x	x	15
Myokarditis	x	x	x	x	x		x		x	x	x			x	x	x	7
Hämorrhagien	x	x	x	x	x		x		x					x	x	x	13
Nekrosen des Darmepithels	x	x	x	x	x	x	x	x									8
Entzündung						x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	14
Makrophagenherde						x			x	x	x			x	x	x	8
Fibrozyten						x				x							2
Degenerierende Zellen im Kryptenepithel														x	x	x	3

4.2.2 Toxinversuche

4.2.2.1 Toxinversuche mit Spiegelkarpfen

4.2.2.1.1 Versuch 3

4.2.2.1.1.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Überstandes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ (III.2.5) bei 5 s.c. injizierten, bei einer Wassertemperatur von 12°C gehaltenen Spiegelkarpfen untersucht. Die Dosis war 0,1 ml pro Fisch. Die Injektion wurde nach 12 Tagen mit derselben Dosis wiederholt.

Nach erfolgter Injektion verhielten sich die Fische lethargisch, schwammen an der Wasseroberfläche und zeigten unregelmäßig krampfartige Schwanzbewegungen. Verluste waren jedoch nicht zu verzeichnen.

Die Fische reagierten nach der zweiten Injektion in gleicher Weise. Nach 15 Tagen wurde alle Fische getötet.

4.2.2.1.1.b Pathologisch-anatomisches Bild

Bei allen Spiegelkarpfen wurden eine Hyperämie der Leber, bzw. der Niere, und Petechien auf der Schwimmblase sowie der Darmschleimhaut festgestellt. Die 2 Kontrollfische zeigten keine äußeren und inneren pathologischen Veränderungen.

4.2.2.1.1.c Pathologische Histologie (siehe Tabelle 15)

- Haut

Die Fische wiesen Infiltration der Hypodermis mit Entzündungszellen auf und einen hyalinscholligen Zerfall der Muskulatur um die Injektionsstelle.

- Milz

In den periarteriolen lymphatischen Scheiden wurden zahlreiche Makrophagen beobachtet.

- Leber

Bei allen Fischen traten herdförmige Lebernekrosen und Makrophagenansammlungen im Pankreas auf.

- Niere

Herdförmige Nekrosen der Tubuli und Glomerula und Auflockerung des hämatopoetischen Gewebes wurden bei allen Fischen festgestellt.

- Herz

Im Atrium wurden eine hochgradige Myokarditis und Perikarditis mit zahlreichen Pigmentmakrophagen gefunden.

- Darm

Einzelne degenerierende Epithelzellen und zahlreiche Schleimzellen wurden in der Lamina epithelialis festgestellt. Eine vermehrte Anzahl von eosinophilen Granulozyten in der Tumica propria war auch vorhanden.

- Schwimmblase

Eine starke Entzündung mit zahlreichen Lymphozyten und Makrophagenherden wurde beobachtet.

Die Kontrollfische zeigten keine pathologischen Veränderungen.

4.2.2.1.2 Versuch 5

4.2.2.1.2.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Überstandes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ (III.2.5) bei 3 s.c. injizierten, bei einer Wassertemperatur von 20°C gehaltenen Spiegelkarpfen getestet. Die Dosis war 0,1 ml pro Fisch von dem oben erwähnten Überstand.

Nach erfolgter Injektion verhielten sich die Fische lethargisch, schwammen an der Wasseroberfläche und zeigten unregelmäßig krampfartige Schwanzbewegungen. Verluste waren jedoch nicht zu verzeichnen. Nach 5 Tagen wurde der Versuch beendet.

4.2.2.1.2.b Pathologisch-anatomisches Bild

Die Nieren und die Leber der Versuchsfische waren hyperämisch und geschwollen. Auf der Schwimmblase und der Darmschleimhaut wurden Petechien beobachtet.

Die Kontrollfische wiesen keine äußeren und inneren Veränderungen auf.

4.2.2.1.2.c Pathologische Histologie

- Haut

Bei diesen Versuchsfischen wurde eine leichte Entzündung zwischen den Muskelfasern um die Injektionsstelle beobachtet.

- Milz

Bei allen Fischen lag eine starke Blutfülle vor.

- Leber

Eine herdförmige Degeneration der Hepatozyten wurde festgestellt.

- Niere

Das hämatopoetische Gewebe zeigte eine diffuse Degeneration und Auflockerung; außerdem lagen zahlreiche nekrotische Zellen vor. Eosinophiles homogenes Material in der Lumina der Nierentubuli und eine beginnende Tubulonephrose wurde bei allen Fischen beobachtet.

- Herz

Die Fische wiesen eine mittelgradige Myokarditis mit zahlreichen Entzündungszellen und Makrophagenherden auf. Im Perikard wurden Blutungen beobachtet.

- Darm

Vereinzelte degenerierende Epithelzellen und massive Infiltration der Tunica propria mit Granulozyten wurden bei allen Fischen festgestellt.

- Schwimmblase

Eine Entzündung mit zahlreichen Lymphozyten und Makrophagenherden wurde beobachtet.

Die Kontrollfische wiesen keine pathologischen Veränderungen auf.

4.2.2.1.3 Versuch 4

4.2.2.1.3 a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Zellextraktes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ (III.2.5) bei 3 s.c. injizierten und bei einer Wassertemperatur von 12°C gehaltenen Spiegelkarpfen überprüft. Die Dosis war 0,1 ml pro Fisch. Nach erfolgter Injektion schwammen die Fische an der Wasseroberfläche, Verluste waren jedoch nicht vorhanden. Nach 12 Tagen wurde die Injektion mit derselben Dosis wiederholt. Die Fische zeigten keine erkennbaren Krankheitssymptome. Nach 15 Tagen wurden die Fische getötet.

4.2.2.1.3.b Pathologisch-anatomisches Bild

Alle Spiegelkarpfen zeigten hyperämische und geschwollene Nieren und Petechien in der Darmschleimhaut.

Die 2 Kontrollfische wiesen keine äußeren und inneren Veränderungen auf.

4.2.2.1.3.c Pathologische Histologie

- Haut

Eine leichte Entzündung zwischen den Muskelfasern um die Injektionsstelle wurde festgestellt.

- Milz

Zahlreiche Makrophagen wurden in periarteriolären lymphatischen Scheiden beobachtet.

- Leber

Eine herdförmige Degeneration der Hepatozyten lag bei allen Fischen vor.

- Niere

Einzelne Tubuli wiesen basophiles Material in den Lumina auf mit einhergehender Nekrose des Tubulusepithels.

- Herz

Eine herdförmige Degeneration des Myokards und vereinzelte Makrophagenansammlungen wurden im Atrium beobachtet.

- Darm

Degenerierende Zellen und Granulozyten waren in der Lamina epithelialis und in der Tunica propria vorhanden.

Die Kontrollfische wiesen keine pathologischen Veränderungen auf.

4.2.2.1.4 Versuch 6

4.2.2.1.4.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Zellextraktes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ (III.2.5) bei 3 s.c. injizierten, bei einer Wassertemperatur von 20°C gehaltenen Spiegelkarpfen überprüft. Die Dosis war 0,1 ml pro Fisch von dem oben erwähnten Zellextrakt. Nach der erfolgten Injektion schwammen die Fische an der Wasseroberfläche, jedoch traten keine Verluste auf. Nach 5 Tagen wurden die Versuchsfische getötet.

4.2.2.1.4.b Pathologisch-anatomisches Bild

Die Fische wiesen eine hyperämische und geschwollene Leber sowie Petechien im Darm auf.

Bei den Kontrollfischen traten keine äußeren und inneren Symptome auf.

4.2.2.1.4.c Pathologische Histologie

- Haut

Eine Entzündung zwischen den Muskelfasern um die Injektionsstelle war vorhanden.

- Milz

Ein Zerfall der Pigmentmakrophagen und zum Teil eine Verlegung kleiner Arteriolen wurde beobachtet. Außerdem wurden einzelne geschichtete Granulome mit nekrotischen Zentren, die von Makrophagenzentren begrenzt waren, gefunden.

- Leber

Einzelne Bereiche wiesen eine herdförmige Degeneration der Hepatozyten mit einer Infiltration von Granulozyten auf (Abb. 15).

- Niere

Die Lumina einzelner Tubuli waren mit basophilem Material ausgefüllt und zeigten Epithelzellnekrosen in unterschiedlicher Ausprägung.

- Herz

Die Fische wiesen eine diffuse Myokarditis mit lymphohistiozytären Zellen auf sowie zahlreiche Granulozyten- und Makrophageninfiltrate subepikardial.

- Darm

Degenerierende Epithelzellen und massive Infiltration von Granulozyten in der Tunica propria wurden festgestellt.

Die Kontrollfische wiesen keine pathologischen Veränderungen auf.

Tabelle 15

PATHOLOGISCHE HISTOLOGIE

der im Versuch 3 und 5 s.c. mit steril filtriertem Überstand
und im Versuch 4 und 6 s.c. mit steril filtriertem Zellextrakt
von Aeromonas hydrophila injizierten Spiegelkarpfen

Applikationsart	Versuch 3					Versuch 5			Versuch 4			Versuch 6		
	S.C.					S.C.			S.C.			S.C.		
Fisch Nr.	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Haltungstemperatur °C	12	12	12	12	12	20	20	20	12	12	12	20	20	20
Wiederholung der Injektion nach (Tagen)	12	12	12	12	12				12	12	12			
Versuchsdauer (Tage)	15	15	15	15	15	5	5	5	15	15	15	5	5	5
getötet	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Entzündung zwischen den Muskelfasern	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
hyalinscholliger Zerfall der Muskelfasern	x	x	x	x	x									
zahlreiche Makrophagen	x	x	x	x	x				x			x	x	x
starke Blutfülle						x	x	x						
einzelne geschichtete Granulome												x	x	x
Degeneration der Hepatozyten					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
herdförmige Nekrosen	x	x	x		x				x					
Makrophagenansammlungen im Pankreas	x	x	x		x									
Nekrosen des Tubulusepithels	x	x	x		x				x	x		x	x	x
Nekrosen der Glomerula	x	x	x						x					
Auflockerung des hämatopoetischen Gewebes	x	x	x	x		x	x	x						
Perikarditis	x	x		x	x									
Myokarditis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
herdförmige Myokarddegeneration									x	x	x			

Haut

Milz

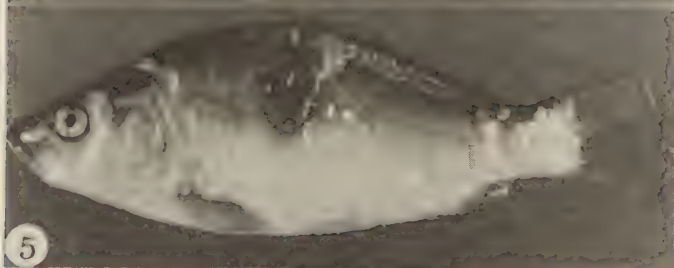
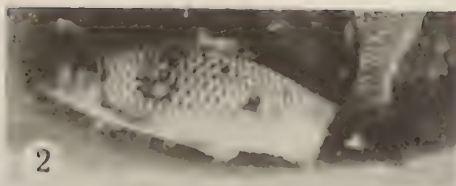
Leber

Niere

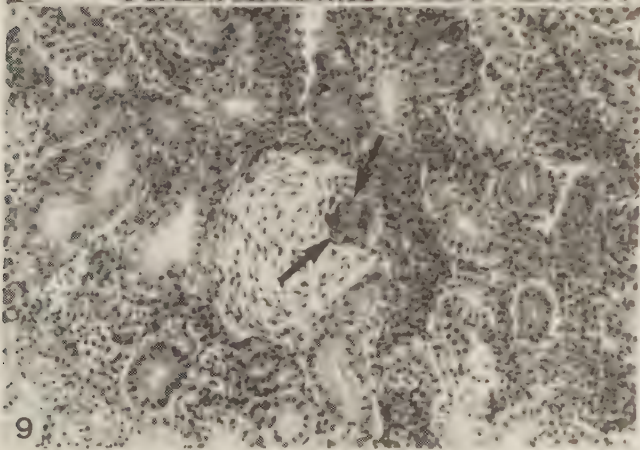
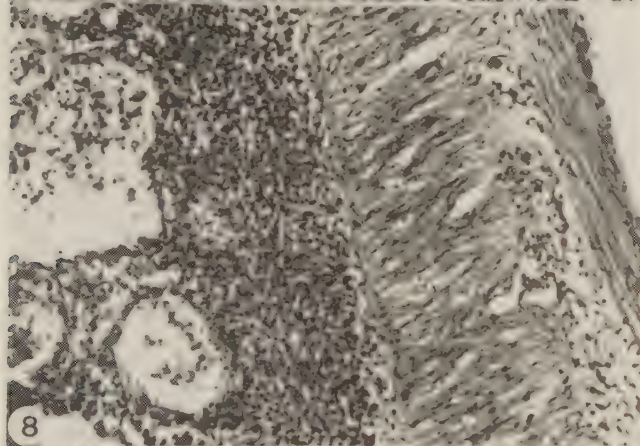
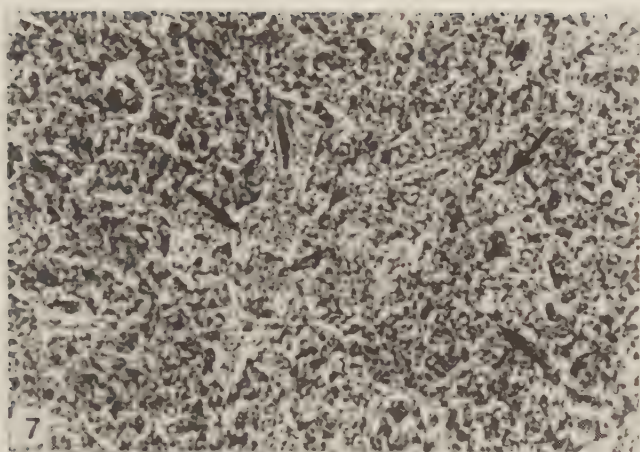
Herz

Applikationsart	Versuch 3					Versuch 5			Versuch 4			Versuch 6		
	S.C.					S.C.			S.C.			S.C.		
Fisch Nr.	1	2	3	4	5	1	2	3	1	2	3	1	2	3
zahlreiche Makrophagenherde im Atrium		x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x
Granulozyten in der Tunica propria	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x
Vereinzelte degenerierende Zellen in der Lamina epithelialis		x	x	x				x	x	x	x	x	x	x
hochgradige Entzündung	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Makrophagenherde	x	x	x	x	x	x	x	x						

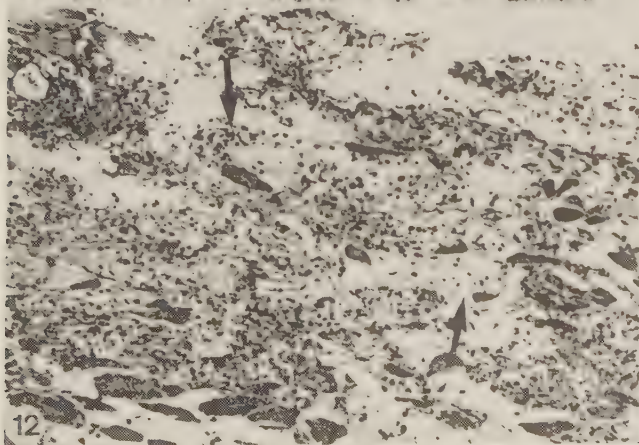
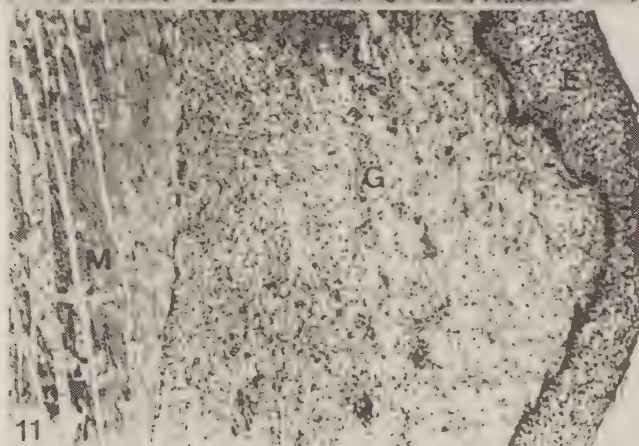
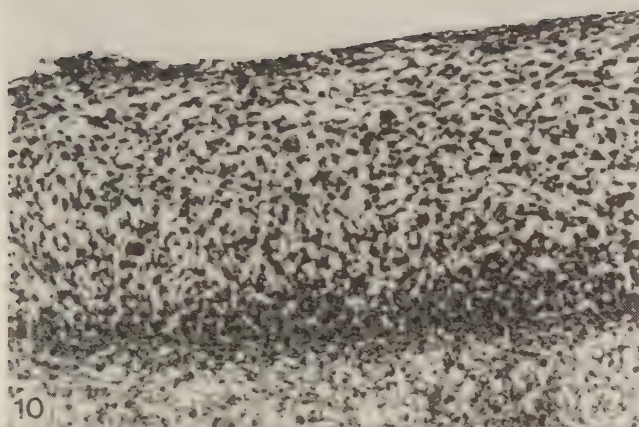
- Abb. 2 Natürlich erkrankter Schuppenkarpfen mit Hautgeschwüren
- Abb. 3 Hämorrhagien auf der Haut eines s.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$ *Aeromonas hydrophila*-Keimen infizierten Spiegelkarpfens; 2. Tag post inf.
- Abb. 4 Großflächiges tiefes Geschwür bei einem s.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$ *Aeromonas hydrophila*-Keimen infizierten Spiegelkarpfen; 11. Tag post inf.
- Abb. 5 Tiefes Geschwür bei einem in die skarifizierte Haut mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$ *Aeromonas hydrophila*-Keimen infizierten Spiegelkarpfen; 11. Tag post inf.
- Abb. 6 β -Hämolyse von *Aeromonas hydrophila* nach 18 Stunden auf Columbia-Agar mit 2% Forel-blut.



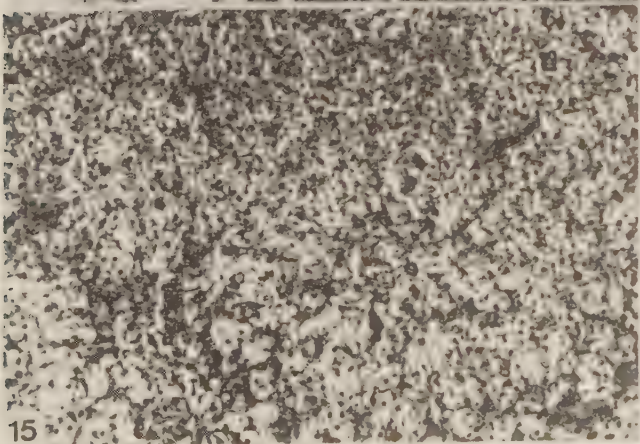
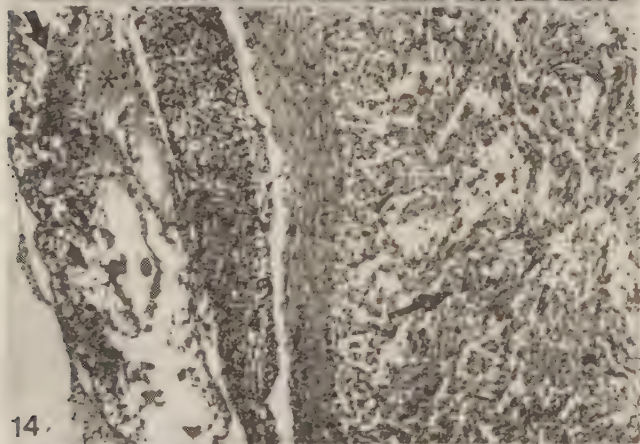
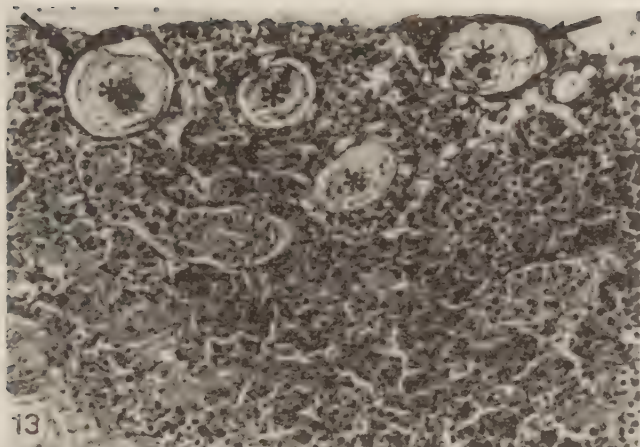
- Abb. 7 Natürlich erkrankter Schuppenkarpfen.
Diffuse Vakuolisierung der Hepatozyten und
herdförmige Lebernekrose (↑); H.E. x 120
- Abb. 8 Natürlich erkrankter Schuppenkarpfen.
Massive lymphozytäre Infiltration der
Submucosa des Darmes; H.E. x 230
- Abb. 9 Natürlich erkrankter Schuppenkarpfen.
Viellagiges geschichtetes Granulom mit
Resten vom degenerierenden Sanguinicola
Ei (↑); H.E. x 230



- Abb. 10 S.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$
 Aeromonas-hydrophila-Keimen infizierter
 Spiegelkarpfen. (7. Tag post inf.,
 Versuch Nr. 2, Fisch 7).
 Massive Hyperplasie der Epidermis;
 H.E. x 230
- Abb. 11 S.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$
 Aeromonas-hydrophila-Keimen infizierter
 Spiegelkarpfen. (14. Tag post inf.,
 Versuch Nr. 2, Fisch 8).
 Massive Ausbildung von Granulationsgewebe
 im Bereich Hypodermis-Dermis mit Vor-
 wölbung der Epidermis nach dorsal;
 H.E. x 90 (E = Epidermis, G = Granulations-
 gewebe, M = Muskulatur)
- Abb. 12 S.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$
 Aeromonas-hydrophila-Keimen infizierter
 Spiegelkarpfen. (14. Tag post inf.,
 Versuch Nr. 2, Fisch 8).
 Ausgedehnte Muskelfasernnekrose mit teil-
 weise vollständiger Myolyse ($\uparrow$); H.E. x 150



- Abb. 13 In die skarifizierte Haut mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$ *Aeromonas-hydrophila*-Keimen infizierter Spiegelkarpfen. (14. Tag post inf., Versuch Nr. 2, Fisch 7)
Tubulonephrose in unterschiedlicher Ausprägung; Anhäufung von eosinophilem Material in den Lumina der Nierentubuli (*); Verlust des Epithels (↑); H.E. x 300
- Abb. 14 S.c. mit einer Dosis von $1,7 \cdot 10^{10}$ *Aeromonas-hydrophila*-Keimen infizierter Spiegelkarpfen. (14. Tag post inf., Versuch Nr. 2, Fisch 8).
Blutungen (↑) und Ödem im Bereich des Pericardes (*); herdförmige Myocarditis im Bereich des Ventrikels (↑); H.E. x 90
- Abb. 15 S.c. mit 0,1 steril filtriertem Zellextrakt von *Aeromonas hydrophila* infizierter Spiegelkarpfen; Wassertemperatur 20°C. (5. Tag post inf., Versuch 6, Fisch 1).
Hochgradige, herdförmige Degeneration der Hepatozyten (↑); H.E. x 230



4.2.2.2 Toxinversuche mit Mäusen

4.2.2.2.1 Versuch 7

4.2.2.2.1.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Überstandes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ bei 2 i.p. injizierten Mäusen untersucht.

1 Stunde nach der Injektion wurden folgende Symptome beobachtet:

Reduzierter Allgemeinzustand, Zittern, verstärkte Bauchatmung und gesträubtes Haarkleid.

Nach 24 Stunden zeigten sie keine auffallenden Krankheitssymptome mehr. Nach 12 Tagen wurde die Injektion wiederholt. Die 2 Mäuse wiesen die gleichen Symptome auf, wie nach der ersten Injektion, jedoch weniger ausgeprägt. Nach 15 Tagen wurden die Mäuse getötet.

4.2.2.2.1.b Pathologisch-anatomisches Bild

Bei den 2 Mäusen waren Leber, Milz und Niere geschwollen. Das Herz zeigte eine Dunkelfärbung. Auf der Leber und der Darm-schleimhaut wurden Petechien beobachtet.

4.2.2.2.1.c Pathologische Histologie (siehe Tabelle 16)

In den Gefäßen der Lunge wurden einzelne hyaline Mikrothromben beobachtet. In der Leber wurde eine diffuse Vakuolisierung der Hepatozyten festgestellt. Eine Muskelfaserdegeneration mit beginnender zellulärer Infiltration wurde im Herz und eine hochgradige Ausbildung von Keimzentren in der Milz beobachtet.

4.2.2.2.2 Versuch 8

4.2.2.2.2.a Klinischer Verlauf und Symptomatik

In diesem Versuch wurde die Wirkung des steril filtrierten Zellextraktes von *Aeromonas hydrophila* Isolat 123/1/Ha/a₂ bei 2 i.p. injizierten Mäusen überprüft.

1 Stunde nach der Injektion befanden sich die Mäuse im Schockzustand. Sie zitterten und drängten sich zusammen. Die Atmung war schwer, das Haarkleid gestäubt und die Augen geschlossen. Eigenreaktionen waren kaum vorhanden. Außerdem zeigte sich ein Augenausfluß. Nach 36 Stunden hatte sich der Zustand der Mäuse gebessert und nach 48 Stunden wiesen sie keine auffallenden Krankheitssymptome mehr auf. Nach 12 Tagen wurde die Injektion wiederholt. Die 2 Mäuse zeigten die gleichen Symptome wie nach der ersten Injektion, jedoch weniger ausgeprägt.

Nach 15 Tagen wurden die Mäuse getötet.

4.2.2.2.2.b Pathologisch-anatomisches Bild

Leber, Milz und Niere waren bei den 2 Mäusen geschwollen. Das Herz zeigte eine Dunkelfärbung. Die Leber war ausgesprochen dunkel und wies auf der Oberfläche ebenso wie die Darmserosa Petechien auf.

4.2.2.2.2.c Pathologische Histologie (siehe Tabelle 16)

In den Lungengefäßen wurden einzelne hyaline Mikrothromben und in größeren Venen Fibringerinnsel festgestellt. Die Leber wies massenhaft kleintropfige Einschlüsse in den Hepatozyten und vereinzelte Hepatozytennekrosen auf. In der Niere wurden mehrere Thromben festgestellt und außerdem eine interstitielle Nephritis. Im Herz wurde eine hyaline Muskelfaserdegeneration und in der Milz massenhaft Keimzentren beobachtet.

Die Kontrollmäuse für die Versuche 7 und 8 wiesen keine äußeren und inneren Veränderungen auf.

Tabelle 16 PATHOLOGISCHE HISTOLOGIE

der im Versuch 7 i.p. mit steril filtriertem Überstand
und im Versuch 8 i.p. mit steril filtriertem Zellextrakt
von *Aeromas hydrophila* injizierten Mäuse.

	V	7	V	8
Applikationsart	i.p.		i.p.	
Mäuse Nr.	1	2	1	2
Versuchsdauer (Tage)	15	15	15	15
Wiederholung der Injektion nach (Tagen)	12	12	12	12
gestorben				
getötet	x	x	x	x
Lunge				
hyaline Mikrothromben in den Lungengefäßen	x	x	x	x
Fibringerinnsel in größeren Venen			x	x
diffuse Vakuolisierung der Hepatozyten	x	x		
Leber				
hochgradige kleintropfige Einschlüsse in den Hepatozyten			x	x
vereinzelte Nekrosen			x	x
geringgradige interstitielle Nephritis	x	x	x	x
geringgradige interstitielle Degeneration			x	x
Niere				
Mehrere Nierenthromben in den Nierenkapillaren			x	x
Milz				
hochgradige Ausbildung von Keimzentren	x	x	x	x
zelluläre Muskelfasern-degeneration	x	x		
Herz				
hyaline Muskelfasern-degeneration			x	x

IV Diskussion

Hautgeschwüre entwickeln sich oft aus sehr kleinen Wunden, wenn sich in ihnen Bakterien vermehren und dadurch eine weiter um sich greifende nekrotisierende Entzündung hervorrufen.

Die Entstehung einer Wundinfektion wird durch folgende Faktoren gefördert:

1. Virulenz und Infektionsdruck von Bakterien
2. Lokale Durchblutungsstörungen im Gewebe
3. Nekrosen im Wundbereich als Nährboden für Bakterien
4. Fremdkörper in bzw. unter der Haut.

Es konnte tierexperimentell nachgewiesen werden, daß sich beim Eindringen eines Fremdkörpers die bakterielle Infektionsdosis, die zur Ausbildung eines Geschwüres notwendig war, auf das 1/1000stel der ursprünglichen Infektionsdosis verringerte (RIEDE und WEHNER, 1986).

CONCAROV (1939) beobachtete, daß er bei gesunden Versuchskarpfen experimentell durch Kontaktinfektion Hautgeschwüre erzeugen konnte. Die Haut gesunder Fische wurde zuerst leicht skarifiziert und darauf am Geschwür eines spontan erkrankten Karpfens gerieben. Diese Beobachtung war sehr wichtig, weil er damit gezeigt hatte, daß in diesen Geschwüren ein infektiöses Agens vorhanden war.

Später hat FIJAN (1966) diese Beobachtungen von CONCAROV als wichtige Grundlage für die Identifizierung des Erregers der Erythrodermatitis benutzt.

FIJAN (1972) hat nach der Zusammenfassung seiner Ergebnisse diese Form der Hautgeschwüre beim Karpfen als eine selbständige Krankheit gesehen und ihr den Namen Erythrodermatitis des Karpfens (CE) gegeben.

Nach BOOTSMAS et al. (1977) tritt diese Infektionskrankheit bei wechselnder Letalität und Morbidität subakut bis chronisch bei allen Wassertemperaturen auf. Sehr häufig sind Hautverletzungen der Ausgangspunkt der Infektion, gefolgt von einem entzündlich-hämorrhagischen Prozeß zwischen Dermis und Epidermis. Die Entzündung breitet sich begrenzt aus, und die Zerstörung der Haut führt zur Bildung eines Geschwüres.

BOOTSMAS (1973), BOOTSMAS und CLERX (1976) haben zuerst *Flexibacter* sp. bzw. *Flexibacter columnaris* als ätiologisches Agens der Erythrodermatitis beschrieben. Nach BOOTSMAS et al. wurde

der Erreger dieser Krankheit aber (1977) als unbewegliche *Aeromonas*-Subspecies definiert, die in die Nähe von *Aeromonas salmonicida* gestellt wird.

Von *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* - dem Erreger der Furunkulose bei Salmoniden - unterscheidet sich *Aeromonas salmonicida* ssp. *nova* durch das Fehlen der Pigmentbildung und durch das Vorkommen einer äußeren Hülle.

SCHULZ und BULLING (1981) berichteten, daß die Erythrodermatitis keine spezifische Infektion des Karpfens durch *Aeromonas salmonicida* ssp. *nova* ist, sondern eine Krankheit, die durch verschiedene Erreger hervorgerufen werden kann. *Aeromonas hydrophila* spielt nach ihrer Meinung bei dieser Krankheit eine vorherrschende Rolle.

Auch SCHÄPERCLAUS (1979) sieht nach wie vor *Aeromonas hydrophila* (= *punctata*) als Erreger der "infektiösen Bauchwassersucht" des Karpfens an, die auch mit Geschwürbildungen einhergehen kann.

BOONYARATPALIN (1981) isolierte aus Fischen mit Epizootischem Ulcerativem Syndrom in Südostasien bakterielle Krankheitserreger, insbesondere *Aeromonas hydrophila* und in einigen Fällen *Pseudomonas* sp. Er hat es aber als unwahrscheinlich angesehen, daß ausschließlich Bakterien und hauptsächlich *Aeromonas hydrophila* die primäre Ursache des Epizootischen Ulcerativen Syndroms darstellen.

Die 1987 im Polyphytossee erkrankten Schuppenkarpfen waren durch Transport und Sauerstoffmangel stark gestreßt. Hautverletzungen durch hohen Besatz und schlechtes Management traten häufig auf. Das Einsetzen in ein stark belastetes fremdes Gewässer bei niedriger Wassertemperatur der ohnehin sich in schlechter Kondition befindlichen Karpfen führte dann zu einem Fischsterben. Praktisch alle Fische wiesen nach ca. 2 Wochen infizierte Hautgeschwüre auf. Aus der Keimisolierung dieser natürlich erkrankten Fische und den Infektionsversuchen an gesunden Karpfen wurde herausgefunden, daß dabei *Aeromonas hydrophila* eine entscheidende Rolle bei dieser Krankheit spielte.

In den eigenen Versuchen wurde die Haut als Haupteintrittspforte gewählt. Über die Haut kann auch in der Natur eine Infektion der Fische sehr leicht erfolgen. Hautverletzungen kommen sehr häufig bei Fischtransporten vor, besonders, wenn der Fischbesatz zu dicht ist. Auch Ektoparasiten können Ver-

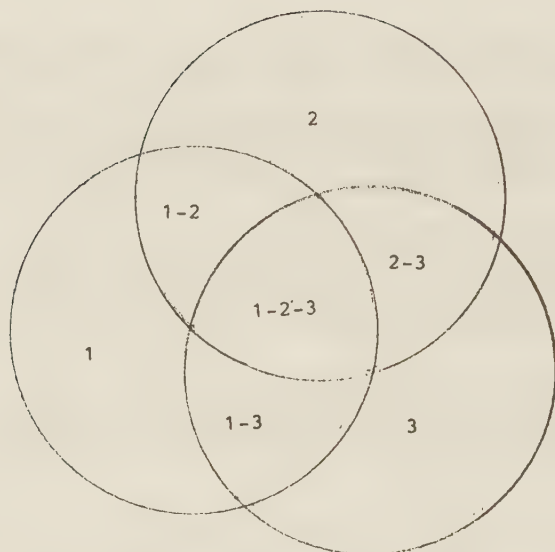
letzungen der Epidermis verursachen und sogar Erreger übertragen (MILLER et al., 1976, AMLACHER, 1986).

MILLER and CHAPMAN (1976) beschrieben eine auftretende *Aeromonas-hydrophila*-Infektion mit ausgedehnten Hautläsionen bei Centrarchidae (Sonnenfischen) aus Staubecken in Nordkarolina. Den Hautläsionen ging ein Befall mit *Epistylis* voraus.

Nach eigenen Untersuchungen wurde auch bei den erkrankten Schuppenkarpfen ein *Dactylogyrus*-befall beobachtet. *Dactylogyrus* setzt, wie auch andere Monogenea, durch Anheftung mittels eines Saug- und Hakenapparates Läsionen. Unter solchen Bedingungen können Krankheitserreger durch die Haut leicht eindringen und dort Wundinfektionen verursachen.

Aus diesen Lokalinfektionen können offensichtlich septische Allgemeinerkrankungen entstehen. Nach einer Bakteriämie erfolgte die Besiedlung aller inneren Organe - aus denen die Bakterien auch isoliert werden konnten - mit dem Auftreten massiver Krankheitserscheinungen bis zum Tod von 88% der Tiere.

Prinzipiell verlaufen die Infektionskrankheiten bei Fischen ähnlich wie bei anderen Wirbeltieren. Der Infektionsverlauf wird aber kompliziert, weil es einen direkten Kontakt zwischen dem Wirt und dem Krankheitserreger gibt. Bakterielle Krankheitserreger bei Fischen führen nur dann zum Ausbruch von Erkrankungen, wenn weitere Faktoren hinzutreten. SNIESZKO (1980) faßte dies in dem von WEDEMEYER (WOOD, 1979) entwickelten, in SKIZZE 1 wiedergegebenen Schema zusammen, welches nicht nur für Bakterien gilt. Er kombiniert es in der Formel Krankheit = Wirt + Infektionserreger + Streß.



SKIZZE 1: Interaktion zwischen den zum Krankheitsausbruch führenden Faktoren nach WEDEMEYER (WOOD, 1979)

1 = Wirt, 2 = Infektionserreger, 3 = Umwelt

Neben *Aeromonas salmonicida* ssp. nova, dem Erreger der Erythrodermatitis nach den vorliegenden Untersuchungen sowie in Befunde von SCHULZ und BULLING (1981), ist *Aeromonas hydrophila* durchaus in der Lage, Hautgeschwüre beim Karpfen zu verursachen, die sich zu einer septischen Erkrankung ausweiten können.

Anscheinend bestehen Virulenzunterschiede bei verschiedenen *Aeromonas-hydrophila*-Isolaten, wie SCHÄPERCLAUS (1979) beschreibt. Er nahm an, daß die schwach virulenten Keime aus dem Wasser stammten, während die hochvirulenten Keime aus Fischen isoliert wurden. In dem ersten Infektionsversuch dieser Arbeit wurden keine Hautgeschwüre bei Spiegelkarpfen beobachtet. Es liegt möglicherweise auch daran, daß die Infektionsdosis im Vergleich zu späteren Versuchen etwas geringer war. [Dosis $6,6 \cdot 10^8$ Keime von einer Bakteriensuspension (III 3.4)].

Der zweite Infektionsversuch zeigte, daß die Pathogenität von *Aeromonas hydrophila* unabhängig von der Art der Hautinfektion ist.

Die Histopathologie der *Aeromonas-hydrophila*-Infektionen wurde bei verschiedenen Fischarten beschrieben (ROBERTS, 1975, FERGUSON et al., 1978, VENTURA et al., 1988).

Bei dem Forellenbarsch (*Micropterus salmoides*) wird die akute Form der *Aeromonas-hydrophila*-Infektion durch hämorrhagische Nekrosen, Geschwüre auf der Haut und gelegentlich auf den Kiemen bestimmt. Weiterhin treten Septikämien, schwere hämorrhagische Nekrosen der inneren Organe, besonders der Leber und der Niere, auf. Die Herzmuskulatur war schwach betroffen (FERGUSON und McCARTHY, 1978). Nach VENTURA et al. (1988) wurden histologische Unterschiede bei Katzenwelsen zwischen natürlichen und experimentellen *Aeromonas-hydrophila*-Infektionen beobachtet.

Bei den natürlich erkrankten Fischen waren die meisten Organe nicht betroffen im Gegensatz zu den experimentell infizierten Fischen, wo diffuse Nekrosen der inneren Organe und Melanomakrophagen im Blut beobachtet wurden. Der Verlauf der experimentellen Infektionen war rascher, die Geschwüre traten bereits nach 48 Stunden auf.

Bei den natürlich erkrankten Schuppenkarpfen aus Griechenland wurden Granulome in Niere, Leber und Pankreas festgestellt. Oft wurden im Zentrum dieser Granulome Eier von *Sanguinicola* sp. beobachtet.

Sanguinicola sp. sind Blutparasiten (Trematoda), die mit dem Blutstrom in die Kiemen und Nieren, seltener in die Leber und die Milz, gelangen. Eier, die über das Gefäßsystem in die Niere gelangen, regen das Interstitium zur Kapselbildung an (ROBERTS und SCHLOTFELDT, 1985).

Granulome findet man auch oft bei Fischen mit Tuberkulose oder Ichthyosporidium-Krankheit (AMLACHER, 1986).

Der rasche Beginn und schwere Verlauf von *Aeromonas-hydrophila*-Infektionen bei Fischen wird offensichtlich durch toxische Produkte der Bakterien mitverursacht. DONTA et al. (1978) berichteten, daß *Aeromonas hydrophila* Zytotoxine besitzt. Die vermehrte Anzahl von Melanomakrophagenzentren, die bei dieser *Aeromonas-hydrophila*-Infektion beim Forellenbarsch (*Micropterus salmoides*) beobachtet wurde, könnte eine Rolle

für die Phagozytose von Hämoglobinabbauprodukten spielen. Diese Abbauprodukte sind Folge der hämorrhagischen Nekrosen, die durch *Aeromonas-hydrophila*-Toxine verursacht werden (ROBERTS, 1975).

Der Tod eines infizierten Fisches kann erwartet werden, wenn hämorrhagische Nekrosen und ein Verlust des strukturellen und funktionellen Zusammenhangs der wichtigsten Organe - besonders der Leber und Niere - auftreten.

Untersuchungen von *Aeromonas hydrophila* auf eventuelle Abgabe von Toxinen oder toxinartigen Stoffen in das umgebende Medium und das Vorhandensein im Zellextrakt und deren Wirkung wurden bei Fischen durchgeführt (THUNE et al., 1982 a, AMBORSKI et al., 1984, ALLAN et al., 1981).

Eigene Untersuchungen zielten darauf ab, bakterienhaltigen, steril filtrierten Überstand von *Aeromonas hydrophila* und steril filtrierten Zellextrakt gegenüberzustellen, um herauszufinden, ob sie eine Schädigung der Versuchstiere verursachten und ob die Wassertemperatur diese vermutliche Schädigung der Versuchsfische beeinflussen kann.

Bei den Toxinversuchen mit Fischen wurde festgestellt, daß kein Fisch starb und kein Fisch Geschwüre auf der Haut zeigte. Die inneren Organe - besonders Leber und Niere - aller Fische wiesen toxische Schädigungen auf. Diese Schädigungen waren unabhängig von der Wassertemperatur, in der die Fische gehalten wurden.

Nach THUNE et al. (1982) hat das Endotoxin von *Aeromonas hydrophila* keine tödliche Wirkung in einer Dosis von 400 µg pro 7,2 gr bei einjährigen Katzenwelsen. Die extrazellulären Produkte der gleichen Bakterien in einer Dosis von 15,7 µg pro 7,2 gr der gleichen Fischart wirkten aber letal.

Die Reaktionen der Mäuse auf die Injektion von 0,2 ml steril filtrierten Überstand von *Aeromonas hydrophila* und steril filtrierten Zellextrakt sowie die histologischen Veränderungen bewiesen, daß der steril filtrierte Überstand und der Zellextrakt von *Aeromonas hydrophila* toxische Stoffe enthielten.

V Zusammenfassung

Im November 1987 wurde ein Fischsterben in einer Fischzucht am Polyphyttensee, Nordgriechenland, beobachtet. 26 natürlich erkrankte Schuppenkarpfen wurden bakteriologisch und 8 davon auch histologisch untersucht.

Bei den bakteriologischen Untersuchungen wurden 66 Stämme isoliert, die überwiegend zu *Aeromonas hydrophila* und zu den Pseudomonaden gehörten. Auch *Flavobacterium balustinum* und *Acinetobacter* sp. wurden isoliert. Mit diesen Bakterien wurden an gesunden Spiegelkarpfen (K₁) Pathogenitätsversuche durchgeführt. Diese Versuche haben gezeigt, daß *Aeromonas hydrophila*-Keime, die durch die Haut injiziert wurden, Hautgeschwüre hervorriefen oder Todesfälle verursachten.

Bei der histologischen Untersuchung wurde gefunden, daß bei den experimentell infizierten Fischen die meisten Organe einen deutlich höheren Anteil an Nekrosen aufwiesen als die der natürlich erkrankten Fische.

Bei den Versuchen mit bakterienhaltigem steril filtriertem Überstand von *Aeromonas hydrophila* und steril filtriertem Zellextrakt wurde festgestellt, daß alle Versuchsfische und -mäuse toxische Schädigungen der inneren Organe aufwiesen.

Nach diesen Untersuchungen und Ergebnissen darf man annehmen, daß die Erythrodermatitis der Karpfen keine einheitliche Ätiologie hat, sondern durch verschiedene Erreger hervorgerufen werden kann, unter denen *Aeromonas hydrophila* eine wichtige Stelle einnimmt.

VI Summary

Aeromonas hydrophila as causative agent of an endemic disease of carp in northern Greece

At Lake Polyphytou in northern Greece a mass mortality was observed in a fish farm in November 1987.

26 naturally diseased common carp were investigated bacteriologically and 8 of them were examined histologically, too.

During this investigation 66 isolates were made among which the majority belonged to *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas*. *Flavobacterium balustinum* and *Acinetobacter* sp. were isolated. Using these bacteria pathogenicity experiments were carried out with healthy mirror-carp. These experiments showed that *Aeromonas-hydrophila*-bacteria injected into the fish via the skin caused skin ulcers and death. According to the histological investigations of the experimentally infected fish, most organs did show more severe necroses in comparison to the naturally diseased fish.

It was shown using bacteria-containing sterile supernatants of *Aeromonas hydrophila* and sterile cellextracts that among all experimental fish as well as in the injected mice toxic damages to the internal organs took place.

According to these investigations and the results obtained it can be suggested that Erythrodermatitis among carp possesses no uniform etiology, but it can be caused by different agents. Among these agents *Aeromonas hydrophila* plays an important role.

VII Literaturverzeichnis

- AHNE, W., POPP, W. and HOFFMANN, R. (1982):
Pseudomonas fluorescens as a pathogen for Tench
 (Tinca Tinca).
 Bull. Eur. Ass. Fish Path. 2, 56-57
- ALLAN, B.J. and STEVENSON, R.M.W. (1981):
 Extracellular virulence factors of *Aeromonas*
hydrophila in fish infections.
 Canadian Journal of Microbiology 27, 1114-1122
- AMBORSKI, R.L., BORALL, R. and THUNE, R.L (1984):
 Effects of short-term cold storage on the recovery
 of proteases from the extracellular products of
Aeromonas hydrophila.
 Appl. and Environm. Microbiol. 48, 456-458
- AMLACHER, E. (1986):
 Taschenbuch der Fischkrankheiten, 5. Auflage
 Gustav Fischer Verl. Stuttgart - New York, N.Y.
- AMOS, K.H. (ed.) (1985):
 Procedures for the Detection and Identification
 of Certain Fish Pathogens. 3d. ed.
 Fish Health Section, American Fisheries Society.
 Corvallis, Oregon.
- AOKI, T. (1974):
 Studies of Drug-resistant Bacteria Isolated from
 Water of Carp-ponds and Intestinal Tracts of Carp.
 Bull. Japan. Soc. Sci. Fish 40, 247-254
- AOKI, T. and EGUSA, S. (1971):
 Drug sensitivity of *Aeromonas liquefaciens* isolated
 from freshwater fishes.
 Bull. Japan. Soc. Sci. Fish 37, 176-185
- ATKINSON, H.M. and TRUST, T.J. (1980):
 Hemagglutination Properties and Adherence Ability
 of *Aeromonas hydrophila*.
 Infection and Immunity, 27, 938-946
- AUSTIN, B. and AUSTIN, D.A. (1987):
 Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and
 Wild Fish.
 Ellis Horwood Limited, Chichester

- BERGEY's Manual of Systematic Bacteriology, Vol. 1 (1984):
(Krieg, N.R. and Holt, S.G. eds.)
The Williams and Wilkins Co., Baltimore/London
- BÖHM, K.H., FUHRMANN, H., SCHLOTFELDT, H.-J. and
KÖRTING, W. (1986):
Aeromonas Salmonicida from Salmonids and Cyprinids -
Serological and cultural Identification.
J. Vet. Med. B. 33, 777-783
- BOONYARATPALIN, S. (1987):
Bacterial Pathogens Involved in the Epizootic Ulcera-
tive Syndrome of Fish in Asia.
Songklanakarin. J. Sci. Technol 9, 495-502
- BOOTSMA, R. (1973):
An outbreak of carp (Cyprinus carpio L.) erythro-
dermatitis caused by a myxobacterium.
Aquacult. 2, 317-320
- BOOTSMA, R. (1975):
Studies on the aetiology of carp Erythrodermatitis.
Presented at the FAO/EIFAC Meet. Fish Dis., Sept. 29th -
Oct. 2nd, Zagreb. Draft report p. 6, FAO, Rome.
- BOOTSMA, R. (1976):
Studies on two Infectious diseases of cultured Fresh-
water Fish.
Rhabdovirus disease of Pike fry, Esox lucius L. Colum-
naris disease of Carp, Cyprinus carpio L.
Diss. Vet. Med. Fak. Univ., Utrecht
- BOOTSMA, R. and CLERX, J.R.M. (1976):
Columnaris disease of cultured carp, Cyprinus carpio L.
Characterization of the causative agent.
Aquaculture, 7, 371-384
- BOOTSMA, R., FIJAN, N. and BLOMMAERT, T., (1977):
Isolation and preliminary identification of the
causative agent of carp erythrodermatitis.
Vet. Arhiv. Zagreb 6, 291-302
- BOOTSMA, R. und BLOMMAERT, J.M. (1978):
Zur Ätiologie der Erythrodermatitis beim Karpfen,
Cyprinus carpio, L.
Fisch und Umwelt 5, 20-27

- BOULANGER, Y., LALLIER, R. and COUSINEAU, G. (1977):
Isolation of enterotoxigenic *Aeromonas* from fish.
Can. J. Microbiol. 23, 1161-1164
- CASELITZ, F.H. (1966):
Pseudomonas - *Aeromonas* und ihre humanmedizinische
Bedeutung.
Verlag Gustav Fischer, Jena
- CASELITZ, F.H. und GÜNTHER, R. (1960):
Hämolysinstudien mit *Aeromonas*-Stämmen.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 180, 30-38
- CASELITZ, F.H. und KREBS, D. (1961):
Untersuchung an *Aeromonas*-Stämmen zur Frage der Wirkung
auf Plasma, Fibrin, Leukozyten, Hyaluronsäure und
Kollagen.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 183, 503-512
- CONCAROV, G.D. (1939):
Zitiert nach FIJAN (1966)
- CSABA, GY., PRIGLI, M., BEKESI, L., KOVACS-GAYER, E.,
BASMOCY, E. and FAZEKAS, B. (1981):
Septicæmia in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*,
Valenciennes) and bighead (*Aristichthys nobilis*,
Richardson) caused by *Pseudomonas fluorescens*.
Proceeding of the International Seminar on Fish,
Pathogens and Environment in European Polyculture.
Organized by the Fisheries Research Institute Szarvas
Hungary. June 23-27, 1981, pp 111-123.
Zitiert nach AUSTIN und AUSTIN (1987)
- DONTA, S.T. and HADDOW, A.D. (1978):
Cytotoxic activity of *Aeromonas hydrophila*.
Infection and Immunity 21, 989-993
- DUBOIS-DARNAUDPEYS, A. (1977):
The epidemiology of furunculosis in salmonids. Parts I,
II and III.
Zitiert nach ROBERTS und SCHLOTFELDT (1985)
- EMMERICH, R. und WEIBEL, E. (1890):
Über eine durch Bakterien verursachte Infektionskrank-
heit der Forellen.
Allg. Fischerei-Ztg. 15, 73-77 und 85-92

- FERGUSON, H.W. and McCARTHY, D.H. (1978):
Histopathology of furunculosis in brown trout, *Salmo trutta* L.
J. of Fish Dis. 1, 165-174
- FIJAN, N. (1966):
Experimental transmission of infectious dropsy of carp.
Bull. Off. int. Epiz. 65, 731-738
- FIJAN, N. (1972):
Infectious dropsy in carp - a disease complex.
In: L.E. Mawdesley - Thomas (Editor).
Diseases of Fish.
Academic Press, London, p.p. 39-51
- FIJAN, N. (1979):
Erythrodermatitis der Karpfen. In: Diagnose und Behandlung von Fischkrankheiten. München 24.-26. Okt. 1978.
Dtsch. Vet. med. Ges. Fachgr. Tierseuchenrecht 1979
- FIJAN, N., PETRINEC, Z., SULIMANOVIC, D., and ZWILLENBERG, L.O. (1971):
Isolation of the viral causative agent from the acute form of Infectious Dropsy of Carp.
Vet. Arch. 41, 125-138
- FUHRMANN, H. (1983):
Vorkommen und Bedeutung fischpathogener Erreger in Fischhaltungen Nordwestdeutschlands.
Vet. med. Diss., Hannover
- GROBERG, W.J., Jr., MCCOY, R.H., PILCHER, K.S. and FRYER, J.L. (1978):
Relation of water temperature to infections of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), chinook salmon (*O. tshawytscha*), and steelhead trout (*salmo gairdneri*) with *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*.
J. Fish. Res. Board Can. 35, 1-7
- HAZEN, T.C. and FLIERMANS, C.B. (1979):
Distribution of *Aeromonas hydrophila* in natural and man-made thermal effluents.
Applied and Environmental Microbiology 38, 166-168

- HAZEN, T.C., ESCH, G.W., DIMOCK, R.V., Jr. and MANSFIELD, A. (1982):
Chemotaxis of *Aeromonas hydrophila* to the Surface Mucus of Fish.
Current Microbiology Vol. 7, 371-375
- HEUSCHMANN-BRUNNER, G. (1970):
Untersuchungen über die Vermehrung der Aeromonaden im toten Fischkörper.
Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr., 83, 381-384
- HEUSCHMANN-BRUNNER, G. (1974):
Aeromonas salmonicida der Erreger der Furunkulose.
Münch. Beitr. Abw.-Fisch-Flußbiol. 25, 25-32
- HEUSCHMANN-BRUNNER, G. (1978):
Die Aeromonaden der *Hydrophila-punctata*-Gruppe bei Süßwasserfischen.
Arch. Hydrobiol. 83, 99-125
- HUIZINGA, H.W., ESCH, G.W. and HAZEN, T.C. (1979):
Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected large-mouth bass *Micropterus salmoides* (Lacégède).
Journal of Fish Disease 2, 263-277
- LALLIER, R., MITTAL, K.R., LEBLANC, D., LALONDE, G. and OLIVIER, G. (1981):
Rapid methods for the differentiation of virulent and non-virulent *Aeromonas hydrophila* strains.
Developments in Biological Standardization 49, 119-123
- LALLIER, R., BERNARD, F., and LALONDE, G. (1984):
Difference in the extracellular products of two strains of *Aeromonas hydrophila* virulent and weakly virulent for fish.
Can. J. Microbiol. 30, 900-904
- LAMERS, C.H.J. and HAAS, M.J.M (1983):
The Development of immunological memory of carp (*Cyprinus carpio* L.) to a bacterial Antigen.
Develop. and compar. Immunology Vol. 7, 713-714

- LAMERS, C.H.J., DE HAAS, M.J.H. and VAN MUISWINKEL, W.B.
(1985 b):
The humoral response and memory formation in carp
(*Cyprinus carpio*) after injection of *Aeromonas hydro-*
phila bacterin.
Dev. Comp. Immunol. 9, 65-76
- MATTHEIS, T. (1964):
Ökologie der Bakterien im Darm von Süßwassernutz-
fischen.
Z. Fischerei N.F. 12, 507-600
- McCARTHY, D.H. (1975):
The bacteriology and taxonomy of *Aeromonas lique-*
faciens.
Techn. Rep. Ser. No. 2, Fish Dis. Lab. Weymouth,
Dorset, U.K.
- McCARTHY, D.H. (1975 a):
Detection of *Aeromonas salmonicida* antigen in
diseased fish tissue.
Journal of General Microbiology 88, 384-386
- McCARTHY, D.H. and ROBERTS, R.J. (1980):
Furunculosis of fish - the present state of our
knowledge.
In: M.R. Droop und H.W. Jannisch (ed)
Advances of Aquatic Microbiology, Vol. 2
Academic Press Inc., New York
- MILLER, R.M. and CHAPMAN, W.R. (1976):
Epistylis and *Aeromonas hydrophila* infections in
fishes from North Carolina reservoirs.
Progressive Fish-culturist 39, 165-168
- PFEIL-PUTZIEN, C. (1988):
Salmonidenbakteriologie unter besonderer Berücksich-
tigung serologischer Nachweisverfahren.
Bericht, angefertigt für das Bundesministerium für
Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

- POL, J.M., BOOTSMA, R. and V.D. BERG-BLOMMAERT, J.M. (1980):
Pathogenesis of Carp Erythrodermatitis (CE) Role of Bacterial Endo- and Exotoxin. Proceedings in Life Sciences: Fish Diseases. Third COPRAQ-Session. Ed. by W. Ahne, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1980, 120-125
- POPOFF, M. and VERON, M. (1976):
A Taxonomic Study of the *Aeromonas hydrophila* - *Aeromonas punctata* Group.
J. gen. Microbiol. 94, 11-12
- RIEDE, V.N. und WEHNER, H. (1986):
Allgemeine und spezielle Pathologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- RILEY, P.S., TATUM, H.W. and WEAVER, R.E. (1972):
Pseudomonas putrefaciens Isolates from Clinical Specimens.
Applied Microbiology, 24, 3, 798-800
- ROBERTS, R.J. (1975 b):
Melanin containing cells of teleost fish and their relation to disease.
In: The Pathology of Fishes, (ed. W.E. RIBELIN, and G. MIGAKI) pp 399-428. Madison, Wis.: University of Wisconsin Press.
- ROBERTS, R.J. und SCHLOTTFELDT, H.-J. (1985):
Grundlagen der Fischpathologie.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg
- ROLLE, M. und MAYR A. (1978):
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler.
Lehrbuch für Praxis und Studium. 4. Auflage.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- SANARELLI, G. (1891):
Über einen neuen Mikroorganismus des Wassers, welcher für Tiere mit veränderlicher und konstanter Temperatur pathogen ist.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 9, 193-199, 222-228

- SANYAL, S.C., SINOH, S.J. and SEN, D.C. (1975):
Enteropathogenicity of *Aeromonas Hydrophila* and *Plesiomonas Shigelloides*.
J. Med. Microbiol. 8, 195-198
- SCHACHTE, J.H. (1978):
Immunization of channel catfish, *Ictalurus punctatus*,
against two bacterial diseases.
Marine Fisheries Review 40, 18-19
- SCHÄPERCLAUS, W. (1927):
Die Rotseuche des Aales im Bezirk von Rügen und
Stralsund.
Z. Fischerei 25, 99-128
- SCHÄPERCLAUS, W. (1928):
Die Hechtpest in Brandenburg und Rügen.
Z. Fischerei 26, 343-366
- SCHÄPERCLAUS, W. (1930):
Pseudomonas punctata als Krankheitserreger bei Fischen.
Untersuchungen über Süßwasseraalrotseuche, Leibeshöhlenwassersucht der Cypriniden, insbesondere des Karpfens
und Fleckenseuche der Weißfische.
Z. Fischerei 28, 289-370
- SCHÄPERCLAUS, W. (1952):
Ursache und Entwicklung der infektiösen Bauchwassersucht beim Karpfen.
Österr. Fischerei 5, 243-251
- SCHÄPERCLAUS, W. (1959):
Großversuche mit Streptomycin zur Bekämpfung der
infektiösen Bauchwassersucht des Karpfens.
Dtsch. Fischerei-Ztg. 6, 176-179
- SCHÄPERCLAUS, W. (1979):
Fischkrankheiten. 4. Aufl.
Akademie-Verlag, Berlin
- SCHUBERT, R.H.W. (1967 a):
Das Vorkommen der Aeromonaden in oberirdischen
Gewässern.
Arch. Hyg. 150, 688-708

- SCHUBERT, R.H.W. (1967 b):
Die Pathogenität der Aeromonaden für Mensch und Tier.
Arch. Hyg. 150, 709-710
- SCHUBERT, R.H.W. (1969):
Der quantitative Aeromonadennachweis im Rahmen der
hygienischen Beurteilung von Vorflutern.
Städtehyg. 20, 7-14
- SCHUBERT, R.H.W. (1975):
Die Relation von aerogenen zu anaerogenen Aeromonaden
der Hydrophila-Punctata-Gruppe in Fließgewässern in
Abhängigkeit von der Abfallstoffbelastung.
Zbl. Bakt., I. Abt. Orig., 160, 237-245
- SCHUBERT, R.H.W., ESANU, J.G. und ESANU, F. (1973):
Ein vereinfachtes Schema zur Identifizierung der im
Oberflächen- und Grundwasser vorkommenden Pseudo-
monaden-Arten.
Zbl. Bakt. Paras. Infektionskr. Hyg. I. Abt.
Reihe B 158, 688-708
- SCHULZ, D. und BULLING, E. (1981):
Beitrag zur Ätiologie der Erythrodermatitis des
Karpfens.
Zbl. Vet. Med. B 28, 450-482
- SNIESZKO, S.F. (1963):
Fish furunculosis.
U.S. Dep. Interior Fish
Wildl. Serv. Fishery Leaflet 467, 1-4
- SNIESZKO, S.F. (1973):
Furunculosis of salmonidae.
EIFAC, techn. Pap., Rome, p. 157
- SNIESZKO, S.F. (1980):
Epizootiology of fish diseases.
Fisch und Umwelt 8, 1-17
- SNIESZKO, S.F. and BULLOCK, G.L. (1976):
Diseases of Freshwater Fishes caused by bacteria
of the genera Aeromonas, Pseudomonas and Vibrio.
U.S. Dept. Int., Fish. Wildl. Serv. Fish. Dis.
Leaflet 45

- STEVENS, R.M.W. and ALLAN, B.J. (1981):
 Extracellular virulence in *Aeromonas hydrophila*
 disease processes in salmonids.
 International symposium on Fish Biologics: Sero-
 diagnostics and Vaccines, Leetown, W. Va., U.S.A.,
 1981.
 Develop. biol. Standard. 49, 173-180
- THUNE, R.L., GRAHAM, T.E., RIDDLE, L.M. and AMBORSKI, R.L.
 (1982 a):
 Extracellular products and endotoxin from *Aeromonas*
hydrophila: effects in age-0 channel catfish.
 Transactions of the American Fisheries Society 111,
 404-408
- VENTURA, M.T. and GRIZZLE, J.M. (1988):
 Lesions associated with natural and experimental
 infections of *Aeromonas hydrophila* in channel
 catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque).
 Journal of Fish Diseases 11, 397-407
- WIEDEMANN, H. (1979):
 Erythrodermatitis der Karpfen - zur Isolierung und
 Klassifizierung des Erregers.
 Deutsche Tierärztl. Wschr. 86, 176
- WIEDEMANN, H. (1980):
Aeromonas salmonicida als Erreger der "Fleckenseuche
 der Weißfische".
 Fisch und Umwelt 8, 59-67
- WIEDEMANN, H. (1981):
 Direkte Immunfluoreszenz zum Nachweis der *Aeromonas*-
salmonicida-Infektion bei Süßwasserfischen.
 Berl. Münch. tierärztl. Wochenschr. 94, 153-155
- WOOD, J.W. (1979):
 Diseases of Pacific Salmon - their prevention and
 treatment.
 Dept. Fish., Olympia, Washington, 3rd edition

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann und Herrn Dr. G. Photis danke ich sehr herzlich für die Themenstellung. Herrn Prof. Dr. Dr. habil. R. Hoffmann danke ich insbesondere für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung und Korrektur dieser Arbeit.

Das Untersuchungsmaterial aus Griechenland wurde freundlicherweise von Herrn Dr. G. Photis zur Verfügung gestellt.

Herrn Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne danke ich herzlich für die virologische Untersuchung der erkrankten Schuppenkarpfen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. C. Pfeil-Putzien, die mir durch ihre persönliche Beratung und sachliche Anleitung immer eine große Hilfe war.

Herzlich bedanke ich mich bei Frau Dr. T. Fischer-Scherl für die Betreuung am Lichtmikroskop sowie für die wertvollen Hinweise bei der Erstellung der Arbeit.

Den Mitarbeitern des Instituts für Zoologie und Hydrobiologie danke ich sehr herzlich für die gute Zusammenarbeit.

Frl. R. Reitmeier danke ich für ihre Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit, Frau B. Klumpp für die Hilfe bei lichtmikroskopischen Arbeits- und Färbemethoden.

Die Herstellung der Abzüge für die Fotos der Arbeit konnte durch die freundliche Hilfe von Herrn Seibt erfolgen.

Herrn Busch danke ich herzlich für die sorgfältige Betreuung der Versuchsfische.

Ein besonders herzlicher Dank gilt der Firma ANAPTIXIAKI KOSANI - AN.KO. A.E. für die Überlassung des Untersuchungsmaterials.

LEBENS LAUF

Name: Apostolos Sioutas

geb.: 07.01.1962

Eltern: Dimitrios Sioutas
Joanna Siouta, geb. Papageorgo-
poulou

Schulbildung: 1967-1973 Volksschule Theotokos-Tri-
kalon
1973-1976 Gymnasium Kalabaka-Trika-
lon
1976-1979 Lyceum Kalabaka-Trikalon

Studium: W.S. 1979 - S.S. 1985 Tiermedizin an
der Aristoteles Universität,
Thessaloniki
Abschluß-Staatsexamen 08.04.1985

Militärdienst: Juni 1985 - Juni 1986

Deutsche Sprache: Juli 1986 - Juli 1987

Dissertation: Ab September 1987
am Institut für Zoologie und Hydro-
biologie der Tierärztlichen Fakultät
der LMU München

Approbation: 12.04.1988

